

**Möglichkeiten zur Hypercholesterinämieinduktion
beim Miniaturschwein
und zur medikamentösen Beeinflussung
der dadurch bewirkten Thrombozytenadhäsionen**

Ludwig-Leonhard Lutz

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik
der
Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. N. Zöllner

Möglichkeiten
zur Hypercholesterinämieinduktion beim Miniaturschwein
und zur medikamentösen Beeinflussung
der dadurch bewirkten Thrombozytenadhäsionen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Ludwig-Leonhard Lutz
aus München

München 1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr.med. H. Hess

Mitberichterstatter: Prof. Dr.med. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 9.5.1978



Herrn Prof. Dr. med. H. Hess möchte ich an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Themas danken.

Herrn Dr. med. M. Marshall bin ich zu besonderem Dank verpflichtet. Ohne seinen stetigen und bereitwilligen Einsatz sowie seine wertvollen Hinweise und Anregungen wäre diese Arbeit nicht denkbar.

Für die Mitarbeit bei den notwendigen Operationen und die allgemeine Betreuung unserer Versuchstiere möchte ich mich bei Herrn cand. med. Heinz Degenhart, bei Herrn cand. med. Gerhard Lisson und besonders bei Herrn cand. med. Mario Prosiegel bedanken.

Schließlich gilt mein Dank Frau Deschler für ihre gewissenhafte Arbeit am Rasterelektronenmikroskop und Herrn Aouini für die mühevollen Sorge um die Tierhaltung.

GLIEDERUNG

A. E I N L E I T U N G	1
I. LITERATURÜBERSICHT	3
THROMBOZYTEN UND ARTERIOSKLEROSE	3
MINIATURSCHWEIN UND ARTERIOSKLEROSE	5
HYPERCHOLESTERINÄMIE UND ARTERIOSKLEROSE	8
II. MATERIAL UND METHODIK	11
1. Tiermaterial	11
2. Operationen	12
3. Rasterelektronenmikroskopie	14
4. Laboruntersuchungen	16
B. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N	17
I. VERHALTEN EINIGER SERUMPARAMETER BEI 16 GESUNDEN UND 3 KRANKEN TIEREN	17
II. EXZESSIVE SACCHAROSEZUFUHR UND IHR EINFLUSS AUF BLUTFETT- UND BLUTZUCKERGEHALT SOWIE OBERFLÄCHENMORPHOLOGIE VON ARTERIEN	24
1. Literaturübersicht	24
2. Material und Methodik	26
3. Ergebnisse	28
4. Diskussion	37
III. AUSWIRKUNG DER THYREOIDEKTOMIE AUF CHOLESTERIN- UND TRIGLYCERIDBLUTSPIEGEL SOWIE ENDOTHELOBERFLÄCHE	43
1. Literaturübersicht	43
2. Material und Methodik	46
3. Ergebnisse	49
4. Diskussion	57

IV. ERSTE VERSUCHE MIT EINEM IN-VIVO-MODELL ZUM STUDIUM VON INHIBITOREN DER THROMBOZYTENADHÄSION AM INTAKTEN ENDOTHEL UNTER HYPERCHOLESTERINÄMIE	64
1. Literaturübersicht	64
2. Material und Methodik	68
3. Ergebnisse	70
4. Diskussion	80

C. ZUSAMMENFASSUNG	88
--------------------	----

D. LITERATURVERZEICHNIS	90
-------------------------	----

A. EINLEITUNG

Die Arteriosklerose zog seit ihrer Begriffsprägung vor nicht ganz 150 Jahren [73] eine unüberschaubare Zahl von Autoren in ihren Bann. So liegt zum Beispiel bei nahe von jedem namhaften Pathologen ein Bekenntnis vor, wie die Arteriosklerose zu deuten sei [67]. Dieser Umstand wird der Bedeutung gerecht, die der Arteriosklerose als einer der Haupttodesursachen der zivilisierten Welt zuzuschreiben ist. Im Zentrum der wissenschaftlichen Bemühungen steht dabei immer wieder die Frage nach den initialen Vorgängen, deren Klärung eine kausale Therapie und Prophylaxe dieser Volkskrankheit erst ermöglicht.

Die vorliegende Arbeit geht davon aus, daß die Thrombozyten innerhalb der initialen Vorgänge eine wichtige Rolle spielen könnten.

Wichtige Befunde zur Stützung einer solchen These wurden mit einem Versuchsmodell erhoben, das die Möglichkeit bietet, die Oberfläche intravital entnommener Gefäße plastisch zu vergrößern. Die vorliegenden Untersuchungen bleiben mit ihrem Versuchsaufbau in diesem bewährten Rahmen.

Da der Nachweis von Thrombozytenadhäsionen am Endothel nach Cholesterinfütterung regelmäßig gelingt [46, 47, 48], erscheint es sinnvoll, dieses Modell auch zur Überprüfung antiadhäsiv wirkender Substanzen einzusetzen. Es ist davon auszugehen, daß gute Adhärenzien in der Lage sein müssen, die Thrombozytenabscheidungen an den Gefäßwänden cholesteringefütterter Tiere zu verhindern.

Von den thrombozytotropen Substanzen, die derzeit bereits im klinischen Gebrauch stehen, ist der Acetylsalicylsäure nach übereinstimmender Meinung [10, 72]

die bisher stärkste Wirkung zuzuschreiben. Aus diesem Grunde lag es nahe, erste Versuche für ein in-vivo-Modell zum Nachweis antiadhäsiver Medikamentenwirkung mit Acetylsalicylsäure durchzuführen.

Beim gegenwärtigen Stand des Versuchsmodells ist offensichtlich, daß im Mittelpunkt der Prüfung von adhäsionshemmenden Medikamenten die Hypercholesterinämie der Versuchstiere steht. So kann beim Fehlen von Thrombozytenabscheidungen auf der Gefäßwand sicher auf eine adhäsionsvermindernde Wirkung des applizierten Wirkstoffes geschlossen und nicht ein Ausbleiben der Adhäsivitätserhöhung auch ohne Medikament ins Feld geführt werden. Denn bei Tieren mit einer Hypercholesterinämie kam es bisher regelmäßig zur Ausbildung von Blutplättchenadhäsionen am Endothel.

In diesem Rahmen ist es von nicht unerheblichem Interesse, ob eine Hypercholesterinämie, die auf anderen Stoffwechselwegen als der exogenen Zufuhr des Substrates zustande kommt, ebenfalls zu den genannten Thrombozytenadhäsionen in ausreichender Regelmäßigkeit führt. Für diese Fragestellung sind zunächst neue Versuchsmodelle zu suchen, die es erlauben, beim Miniaturschwein mit genügender Sicherheit eine Hypercholesterinämie zu erzeugen, ohne daß Cholesterin mit der Nahrung direkt zugeführt wird. Aus diesem Grunde wurde drei Tieren ein Futter angeboten, das stark mit Saccharose angereichert war. Mit der gleichen Zielsetzung wurden drei weitere Tiere thyreoidektomiert.

I. LITERATURÜBERSICHT

THROMBOZYTEN UND ARTERIOSKLEROSE

Indem die intakte Gefäßwand eine wichtige Rolle spielt, das Blut flüssig zu erhalten, umgekehrt die Bestandteile des Blutes die Intaktheit der Gefäßwand garantieren, sind Gefäßwand und Blut als eine Funktionseinheit anzusehen [106]. Auch für die Regulation der Durchblutung ist das Zusammenspiel zwischen Gefäß und Blut von Bedeutung. Die Durchblutungsgröße wird einerseits vom Blut über Viskositätsänderungen, andererseits von der Gefäßwand über den Muskeltonus beeinflusst [47]. Unter physiologischen Bedingungen kommt es nicht oder nur in nicht beobachtbarem Ausmaß zu Ablagerungen von strömenden Elementen des Blutes auf die Innenwand von Gefäßen. Unter pathologischen Bedingungen kann eine solche Ablagerung aber sowohl vom Endothel als auch vom Blut her ausgelöst werden.

Wie eingangs bereits angedeutet, gründet sich die vorliegende Arbeit auf die These, daß auf der Gefäßinnenfläche adhärente Thrombozyten im Rahmen der initialen Vorgänge bei der Entstehung einer Arteriosklerose eine wichtige Rolle spielen könnten. In diesem Sinne sind die Lipidinfiltrationen in die Gefäßwand nur Folge von Mikro-Wandthromben aus Thrombozyten, die mit Fibrin vernetzt und in der Wand sekundär organisiert worden sind [21, 92, 93, 107]. Diese Auffassung wird gestützt durch Beobachtungen, daß solche Abscheidungen auf dem Endothel in der Tat inkorporiert und endothelialisiert werden können [67, 125].

Es bestehen im wesentlichen zwei Möglichkeiten, wie pathologische Reize zum Anhaften von Thrombozyten auf dem Endothel führen können: erstens durch einen direkten Eingriff am Blutplättchen selbst und zweitens durch

eine Alteration der Gefäßwand mit einer sekundären, dann reparativen Adhäsion von Thrombozyten. Schon lange ist bekannt, daß Beschädigungen des Endothels beseitigt werden, indem Thrombozyten durch das freigelegte Kollagen [41] zur Adhäsion kommen [7, 22].

Die an unserer Klinik als Angiopathiemodell "Kälte-angiitis" durchgeführten Eisreizversuche, die an den exponierten Gefäßwänden zu Thrombozytenadhäsionen führten [29, 33, 47, 48], stellen ein Beispiel primärer Wandschädigung mit nachfolgender sekundärer Blutplättchenabscheidung dar [47].

Es darf auf der anderen Seite aber angenommen werden, daß die Thrombozyten unter bestimmten Voraussetzungen ohne vorausgehende Wandschädigung am Endothel haften können [47]. In diesem Zusammenhang ist zu berücksichtigen, daß der Begriff der intakten Gefäßwand problematisch ist, weil er bis heute lediglich morphologisch umrissen werden konnte [58]. Geht man davon aus, daß es zu Adhäsionen am intakten Endothel kommt, so müssen als Voraussetzung hierfür Reize wirksam sein, die in der Lage sind, den Thrombozyten in eine Reizform zu überführen [46, 47, 48]. An unserer Klinik konnte demonstriert werden, daß sowohl bei Kaninchen als auch bei Miniaturschweinen, die eine mit Cholesterin angereicherte Trockenkost erhielten, schon nach wenigen Tagen Thrombozyten auf dem Endothel verschiedener Arterien nachzuweisen waren, obwohl das Endothel intakt erschien. Dieses Ergebnis konnte ebenfalls erzielt werden, wenn die Tiere Zigarettendrauch ausgesetzt wurden. Hier scheinen also die Thrombozyten unter dem Einfluß von Risikofaktoren der Arteriosklerose ihre Reizform entwickelt zu haben [46, 47, 48, 49, 50, 51, 52]. Dabei handelt es sich morphologisch um eine Gestaltänderung von der ellipsoiden Ruheform in eine Kugelform mit Ausbildung von sogenannten Pseudopodien, die unter dem Einfluß bestimmter Reizstoffe eine Erleichterung von Aggregation und Adhäsion bewirken [50].

Bei einer Reihe von Substanzen konnte bis jetzt eine Wirkung als Reizstoff gezeigt werden, darunter vor allem Katecholamine und Serotonin [90], Adenylverbindungen [41, 94], Thrombin [81] und langkettige Fettsäuren, zum Beispiel bestimmte Prostaglandine [81].

Natürlich ist nun nicht sogleich zu postulieren, daß jede Abscheidung auf dem Endothel einen pathologischen Gefäßprozeß nach sich zieht, sondern es ist wahrscheinlich, daß Adhäsionen in bestimmtem Rahmen ohne Folgen toleriert werden. Diese Annahme wird gestützt durch die Tatsache, daß wandadhärente Thromben praktisch spurlos in den Endothelverband integriert werden können [29]. Es ist also eine Toleranzgrenze zu fordern, deren Marken von Dauer, Frequenz und Intensität des einwirkenden Reizes abhängig sind. Wird diese hypothetische Grenze überschritten, so kann die Inkorporation entsprechender Adhäsionen in einer Gefäßkrankheit resultieren.

Die für die vorliegende Arbeit grundlegende These ist also zusammenfassend dahingehend zu umreißen, daß Endothelschädigung ebenso wie Thrombozytenadhäsion in Relation zur wirksamen Noxe zunächst unabhängig voneinander auftreten können. Die entstandenen Mikro-Wandthromben dürften im weiteren Ablauf den auslösenden Prozeß bei der Entstehung der Arteriosklerose darstellen.

MINIATURSCHWEIN UND ARTERIOSKLEROSE

Die Frage, ob sich die Arteriosklerose des Menschen im Tierversuch nachahmen läßt, spielt in der Diskussion um experimentelle Ergebnisse zur Ätiologie und Pathogenese der Arteriosklerose eine große Rolle. Die Vielschichtigkeit und Komplexität dieser chronischen Krankheit kann eine einheitliche Meinung nicht erwarten lassen, ob die letztlich unvermeidbare Vereinfachung des Tierversuches zulässig sein kann oder nicht. Manche lehnen überhaupt

die Möglichkeit ab, eine derart chronische und angeblich spezifisch menschliche Erkrankung beim Tier nachahmen zu können, und bestreiten jede Berechtigung, Ergebnisse von Tierversuchen zur Arteriosklerose auf die Verhältnisse beim Menschen übertragen zu dürfen [z.B. 56, 70, 130]. Andere vertreten die Ansicht, daß es gelingt, die verschiedenen Formen des menschlichen Krankheitsbildes am Tier zu erzeugen und die Pathogenese aus diesen Tierversuchen heraus verstehen zu lernen [z.B. 16, 44, 81, 96]. Es darf beim gegenwärtigen Stand der Forschung nicht verwehrt werden, bei sorgfältiger Beachtung der Unterschiede Schlüsse vom Tierversuch auf die Humanpathologie der Arteriosklerose zu ziehen. So hat es sich eingebürgert, durch Verwendung von Begriffen wie "Cholesterinatheromatose" oder gar "experimentelle Arteriosklerose" eine Wesensgleichheit mit der menschlichen Erkrankung anzudeuten. [128]

Doch kann man die Vergleichbarkeit nur beurteilen, wenn die spontanen arteriellen Veränderungen beim Tier genauestens untersucht und eingeordnet werden. In dieser Hinsicht haben sich in der langen Reihe von Untersuchungen klare Unterschiede zwischen einzelnen Tierarten ergeben [128]. Die Suche nach Tierarten, die zumindest Vergleiche mit den Gefäßverhältnissen beim Menschen erlauben, führten zu einer immer stärkeren Betonung des Schweins als Versuchstier. Daß Schweine in ihrem Stoffwechsel sehr viel Ähnlichkeit mit Menschen haben und sich deshalb z.B. für physiologische Studien besonders gut eignen, ist seit langem bekannt [63]. Da das Hausschwein wegen seiner Größe und aufwendigen Haltung und Fütterung als Versuchstier nur selten eingesetzt werden konnte, war die Züchtung von Zwergrassen in verschiedenen Laboratorien ein gewaltiger Fortschritt. Auch unsere Versuchstiere, die 1958 in den Hanford-Laboratorien gezüchteten Miniaturschweine, sind nicht nur leichter und besser zu halten als Hausschweine, sondern sie entsprechen in Größe und Gewicht eher

dem Menschen. Es darf angenommen werden, daß die Ergebnisse des Hausschweines in hinreichendem Umfang auch für das Miniaturschwein Gültigkeit besitzen [91], was auch teilweise schon durch Versuche belegt werden konnte [43, 63, 141]. Für die Arterioskleroseforschung ist zudem von Bedeutung, daß neben Ernährung, Verdauungswegen, ja sogar Zähnen [43], Herz und Kreislauf denen des Menschen sehr ähneln [16]. Es besteht eine weitgehende Übereinstimmung mit dem Menschen in einer Reihe von Stoffwechselabläufen [26], besonders auch was den Lipidstoffwechsel anbelangt [140, 141]. Vor allem aber bietet das Arteriensystem des Schweines in seiner gesamten Größenordnung wie in seinen feinstrukturellen Elementen ein nahezu ideales Studienobjekt sowohl in morphologischer als auch in biochemischer Hinsicht [16]. Diese anatomische Vergleichbarkeit wird für die Arterioskleroseforschung dadurch noch aufgewertet, daß es beim domestizierten Schwein innerhalb der ersten zwei bis drei Lebensjahre nahezu regelmäßig zu arteriosklerotischen Frühformen kommt, die sich mit der menschlichen Arteriosklerose auf eine Stufe stellen lassen [16, 17, 61]. Es ist nunmehr allgemein anerkannt, daß das Schwein an der Intima von Aorta und Hauptarterien spontane Veränderungen entwickelt, die viele Merkmale der Arteriosklerose des Menschen zeigen [18]. Dies offenbarte zuerst eine lichtmikroskopische Studie, bei der auch nachgewiesen werden konnte, daß offenbar neben dem Intimaödem auch Mikrothrombosen einen wichtigen Faktor bei der Entwicklung früharteriosklerotischer Veränderungen darstellen. Dabei können sowohl Fibrin als auch Blutplättchen von Arterienendothel inkorporiert werden [18]. Auch durch Beobachtungen mit dem Elektronenmikroskop konnte dieser Umstand bei Aorten und Herzkranzgefäßen an 16 Schweinen [27] aufgezeigt werden. "Aorten von 4 Monate bis drei Jahre alten Schweinen zeigen in altersbedingter Häufigkeit Fibrose der Intima mit und ohne Fetteinlagerung sowie Kalkablagerungen in der Intima.

Diese Veränderungen sind schon bald makroskopisch sichtbar und finden sich vor allem in der Aorta thoracica als weiße oder blaßgelbe Plaques von 1 - 10 mm Größe." [128]. Im weiteren Verlauf des Lebens kann es bei diesen Tieren zu Vollbildern mit entsprechender klinischer Symptomatik kommen [16, 17]. "In weitgehender Übereinstimmung lassen die Untersuchungsergebnisse erkennen, daß der spontanen Arteriosklerose des Schweines die gleichen Strukturveränderungen in der Arterienwand zugrunde liegen wie der des Menschen, d.h. eine vielfältige Kombination proliferativer und degenerativer Vorgänge mit der Tendenz zur Atherombildung in der sklerotischen Intima." [16] Deshalb können viele der Mechanismen, die in der Lage sein könnten, "eine Rolle bei der Entstehung atherosklerotischer Läsionen zu spielen, leicht am Schwein studiert werden. Für den Versuch, die Bedeutung einzelner der möglichen Mechanismen während verschiedener Stadien des atherosklerotischen Prozesses festzulegen, erscheint das Schwein als besonders geeignet." [108]

HYPERCHOLESTERINÄMIE UND ARTERIOSKLEROSE

Die Untersuchung epidemiologischer Zusammenhänge bei der Arteriosklerose führte zur Ermittlung einer Reihe von sogenannten Risikofaktoren, zu denen insbesondere auch die Hypercholesterinämie gehört [53, 65]. Die über viele Jahre durchgeführte Framinghamstudie [64, 65] zeigt unter anderem, daß zum einen bei Patienten mit Koronarsklerose häufig auch eine Hyperlipidämie besteht und zum anderen das Risiko für eine Koronarerkrankung bei Serumcholesterinwerten oberhalb 300 mg% auf nahezu das Fünffache ansteigt. Ebenso ist bei peripheren arteriellen Verschlußkrankheiten die Hypercholesterinämie zweimal so häufig wie in der nicht selektierten Gesamtbevölkerung [71]. Diese und ähnliche

Ergebnisse [Zusammenfassung in 37] lassen die Vermutung zu, daß der Hypercholesterinämie bei einem Teil der Fälle von Arteriosklerose eine pathogenetische Rolle zukommen könnte.

Seit den Anfängen pathologisch-anatomischer Untersuchungen von arteriosklerotisch veränderten Gefäßen ist die Anhäufung von Lipiden als ein führendes Merkmal arteriosklerotischer Plaques bekannt [134]. Diese Anhäufung von Lipiden in der Arterienwand beruht größtenteils auf einer Einlagerung des Cholesterins und seiner Ester [54]. In Versuchen mit ^{14}C -markierten Substanzen konnte nachgewiesen werden, daß das Cholesterin in den arteriosklerotischen Plaques fast ausschließlich aus dem Blut stammt und nur zu einem geringen Teil in der Arterienwand selbst synthetisiert wird [134]. Der Anteil an Cholesterinestern kann erhöht sein, weil der Abfluß aus der arteriosklerotischen Gefäßwand behindert ist oder weil die Syntheserate der Cholesterinester gesteigert ist [13]. Hierzu steht eine letzte Klärung wohl noch aus.

Es stellt sich nun die Frage, auf welche Weise die Lipide aus dem Blut in die Gefäßwand gelangen. Dies ist einerseits von der Gefäßwand her denkbar als Erhöhung der Permeabilität der Intima, wie dies für die Hypertonie zu gelten scheint [123], oder als Lipophagozytose adsorbierter Fettröpfchen durch das Endothel [122]. Andererseits sollte aber auch die Einbringung von Lipiden in die Intima vom Blut her durch Lipophagen erwogen werden, die an der Gefäßwand adhärieren können [102].

Eine Stütze für die Auffassung, daß Lipophagen des Blutes bei der Atherogenese eine Rolle spielen könnten, stellt die Erkenntnis dar, daß die Thrombozyten zu Lipophagozytose und Fetttransport befähigt sind [114]. Diese vermehrte Beladung der Thrombozyten mit Fettpartikeln konnte elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden, sowohl nachdem Fettemulsionen infundiert worden waren, als auch bei Patienten mit Hypercholesterinämie [114].

Die Zahl und Größe der phagozytierten Fetteilchen zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Höhe des Blutfettspiegels [114].

Sowohl bei der Lipophagozytose durch Endothelzellen [122] als auch bei der Fettaufnahme durch Lipophagen des strömenden Blutes [102] ist die Beziehung zur Entstehung der arteriosklerotischen Plaques in der Adhärenz an der Innenfläche des Gefäßes zu suchen. Im Gefolge kommt es zur Ausbildung von parietalen Mikrothromben, die von einem neuen Endothel überzogen und so in die Gefäßwand inkorporiert werden. Entsprechend scheint die Beobachtung der Fettphagozytose durch Thrombozyten von größter Bedeutung zu sein. Wie in unserer Klinik gezeigt werden konnte, werden unter dem Einfluß einer Hypercholesterinämie im Tierversuch Thrombozyten am intakten Endothel adhären. Die Blutplättchen könnten also nicht nur die Aktivatoren des arteriosklerotischen Prozesses sein, sondern sie könnten in ihrer Eigenschaft als Lipophagen eine wesentliche Rolle bei der Einlagerung von Lipiden aus dem Blut in die Gefäßwand spielen. Aus diesen Gründen eignet sich das im Folgenden beschriebene Versuchsmodell für Untersuchungen mit hypercholesterinämischen Tieren in besonderer Weise.

II. MATERIAL UND METHODIK

1. Tiermaterial

Die Versuche wurden an neun Hanford-Miniaturschweinen beiderlei Geschlechts durchgeführt, davon 5 kastrierte männliche. Die Zwergschweine wiesen ein durchschnittliches Gewicht von 43 kg auf, entsprechend ihrem Durchschnittsalter von 23 Wochen. Das jüngste war 8 Wochen (15 kg), das älteste 44 Wochen (79 kg) alt.

Die Tiere wurden einzeln in Boxen ohne Auslauf gehalten. Sie wurden mit einem handelsüblichen Schweinemasttrockenfutter ernährt (Club-Mastschrot MM), das nach Angaben des Herstellers (Club-Mastschrotwerke GmbH, Hamburg) folgende Substanzen enthält: Proteine (14 %), Rohfaser (5,5 %), Calcium (0,7 %), Phosphor (0,55 %), Vitamin A (500 I.E.), Vitamin D₃ (600 I.E.) und Vitamin E (2,5 mg pro 100 g). Das Futter soll überhaupt keine Saccharose enthalten. Auf andere Stoffe wurde es nicht untersucht. Wasser stand den Tieren über einen mit der Schnauze herabdrückbaren Hahn nach Belieben zur Verfügung. Die Tiere gewöhnten sich sehr rasch an die lokalen Gegebenheiten und den Untersucher, so daß man sie als sehr zutraulich bezeichnen kann. Die kurzzeitige, von Angst geprägte Belastung der intraperitonealen Applikation des Narkotikums (siehe unten), bei der die Tiere an den Hinterläufen hochgehalten werden müssen, und die anschließende Operation überstanden die Tiere gut und ohne ausgeprägtes Angstverhalten in der Folgezeit. Nach Implantation eines Vorhofkatheters [78, 79], der subkutan zum Nacken hochgezogen wurde, konnte problemlos und ohne Belastung des Tieres regelmäßig Blut entnommen werden. Des öfteren kam es trotz regelmäßiger Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung und anschließendem Auffüllen des Katheters mit Natriumzitat-

lösung zum thrombotischen Verschluß des Katheters, so daß kleinere Untersuchungspausen bis zur Neuimplantation unvermeidbar waren.

2. Operationen

a) Narkose

Die Narkose wurde mit der speziell für Schweine entwickelten Kombination des Hypnotikums und Muskelrelaxans Methomidat (Hypnodil, Jansen-GmbH, Düsseldorf) mit dem Sedativum aus der Butyrophenonreihe Azaperon (Stresnil, Jansen-GmbH, Düsseldorf) durchgeführt [84]. Von Azaperon wurden 2 - 4 mg / kg Körpergewicht intramuskulär appliziert, während von Methomidat 10 - 15 mg / kg intraperitoneal beziehungsweise bei bereits vorhandenem Katheter 3 - 5 mg / kg Körpergewicht intravenös verabreicht wurden. Sobald die Tiere unter tiefer Narkose standen, wurden sie auf dem Operationstisch rücklings gelagert.

b) Katheterimplantation

Die erste Operation, der jedes Tier unterzogen wurde, war die Implantation eines Vorhofkatheters. Dabei wurde zunächst die rechte Vena jugularis externa freipräpariert. Nach Unterbindung distal vom Herzen wurde das Gefäß quer inzidiert und durch diese Öffnung der Katheter bis etwa in Höhe des rechten Vorhofs eingeführt, bei größeren Tieren ungefähr 20 cm, bei kleineren Tieren nach einem tödlichen Zwischenfall circa die Hälfte des Gewichtsbeitrages in Zentimetern. Als Katheter benützten wir Schläuche aus Silikon-Kautschuk mit einem Außendurchmesser von 3,5 mm und einer Lichtung von 1,5 mm Durchmesser, die vor Implantation innen und außen mit Silikonöl benetzt und dann sterilisiert worden waren. Durch eine Ligatur aus starker Seide, die gleichermaßen

Gefäß und Katheter erfaßte, wurde der Katheter in der Tiefe fixiert. Das freie Ende des Schlauches wurde anschließend subkutan in zwei Etappen zum Nacken hochgezogen und so an der Haut fixiert, daß es 10 bis 15 cm über das Hautniveau hinausragte und damit bequem erreichbar war. Der Katheter wurde mit einem passenden Verschuß versehen. Diese Operation konnte pro Tier bis zu viermal durchgeführt werden, falls der Katheter, was bei jedem Tier mindestens einmal vorkam, nicht mehr durchgängig war. Diese Operation ist nämlich auch mit der Vena jugularis interna als venösem Zugang möglich [76, 82, 83].

c) Arterienentnahme

Zunächst wurde die zu entnehmende Arterie präparativ aufgesucht. Bei den ersten drei Tieren wurde die Arterie nach Freilegen in ein längs gespaltenes Gummiröhrchen der gleichen Länge wie der zu untersuchende Arterienabschnitt eingeschidet und mit einem Gewebekleber (Histacryl-N-blau, Braun-Melsungen) an der gesamten Oberfläche fixiert, so daß das Gefäßsegment im gespannten Zustand entnommen werden konnte. Dann wurde distal und proximal des Gummis ligiert, das Gefäß zwischen Gummi und Ligatur durchtrennt und das ummāntelte Gefäßstück entnommen. Einmal entfernt, wurde das Gefäß längs aufgeschnitten, mit Hilfe von Stecknadeln marginal auf einem Korkplättchen festgeheftet, vorsichtig mit erwärmter Kochsalzlösung abgespült und zur Fixation vorbereitet. Bei den anderen sechs Tieren hefteten wir das Untersuchungsobjekt in situ auf ein etwa 2 cm langes und 1 cm breites Korkplättchen, statt es in das Gummiröhrchen einzuscheiden und dann erst auf Kork aufzubringen. Obwohl das Gefäß auch bei der ersteren Methode im natürlichen Spannungszustand erhalten werden konnte, waren doch kleinere Manipulationen direkt am Gefäß notwendig, die nunmehr vermieden werden konnten. Anderer-

seits besteht bei dem abgewandelten präparativen Vorgehen eine gewisse Gefährdung für das Präparat, da es zunächst geringfügig zusammenschnurren könnte, ehe es durch das Anheften in der Zugspannung verbleibt. Diese Bedenken wurden aber durch die Praxis widerlegt, so daß sich diese Methode bewährt hat.

Am Ende eines Versuchsablaufes exstirpierten wir das Herz, um noch eine Arteria coronaria untersuchen zu können. Sie wurde in der gleichen Weise wie eben beschrieben für die Untersuchung vorbereitet.

3. Rasterelektronenmikroskopie

a) Vorbereitung der Gefäße [28]

Die Gefäßpräparate wurden 30 Minuten in auf pH 7,2 gepufferter Glutaraldehydlösung bei 4° C fixiert. Anschließend wurden sie zweimal je 30 Minuten in 30%igen Alkohol und darauf 12 - 17 Stunden in 70%igen Alkohol eingebracht. Nachdem die Versuchsproben nunmehr 30 Minuten in 90%igem Alkohol gelegen hatten, wurden sie schließlich weitere 30 Minuten absolutem Alkohol ausgesetzt.

Daraufhin wurden die Präparate in schwachem Vakuum getrocknet, was vorteilhafterweise einen nicht allzu schroffen Übergang zum Hochvakuum garantiert, das für die Bedampfung und anschließende Betrachtung im Gerät notwendig ist.

Das in dieser Weise fixierte, entwässerte und getrocknete Präparat mußte schließlich auf einen Spezialobjektträger übertragen, mit Klebstoff befestigt und mit einer Gold- beziehungsweise Kohle-Goldschicht bedampft werden, damit es zur Betrachtung in das Gerät eingebracht werden konnte.

b) Funktionsweise des Gerätes [28, 105]

Die Betrachtung der Oberfläche der Gefäßpräparate ermöglichte uns das Rasterelektronenmikroskop vom Typ Stereoscan Mark II, das angedeutet nach folgendem Prinzip arbeitet: Elektronen werden auf hohe Energie beschleunigt und durch drei elektromagnetische Linsen auf die Oberfläche des Objekts fokussiert. Der so gebündelte Elektronenstrahl rastert in 1000 Zeilen einen quadratischen Flächenabschnitt des Präparates ab, dessen Größe je nach der eingestellten Vergrößerung variiert. Die auftreffenden Elektronen des Primärstrahls lösen energieärmere Sekundärelektronen aus der Oberfläche heraus, von denen eine Anzahl aufgenommen und einem Szintillator zugeführt wird. Die Intensität der vom Szintillator weitergeleiteten Signale ist der Anzahl aufgenommener Sekundärelektronen proportional. Diese Signale steuern die Helligkeit des Bildpunktes einer Kathodenstrahlröhre, der mit dem Rastervorgang des Primärstrahls synchronisiert ist und Zeile für Zeile ein Bild aufbaut. Dieses Bild kann entweder auf einem lang nachleuchtenden Schirm betrachtet oder aber photographiert werden. Die Vergrößerung kann stufenweise zwischen 20 : 1 und 20.000 : 1 eingestellt werden.

Die Ausbeute an Sekundärelektronen ist erstens vom Winkel zwischen Primärstrahl und Probe, der variabel ist, abhängig, zweitens von der Leitfähigkeit der Oberfläche, weshalb die Bedampfung biologischer Oberflächen mit Gold oder Kohle und Gold notwendig ist, und drittens vom Relief der Oberfläche.

Durch eine hohe Schärfentiefe vermittelt das Gerät einen räumlichen Eindruck der zu untersuchenden Oberfläche, die dadurch einer plastischen und direkten Beobachtung zugänglich ist. Eine Oberfläche kann nach Auflagerungen abgesucht werden, deren Ausmaß sich in Größen-

ordnungen weit unter $1\text{ }\mu$ bewegt. Weiters ist von Bedeutung, daß dieses Gerät im Gegensatz zum herkömmlichen Elektronenmikroskop, dessen Objektträgernetz eine Fläche von 7 mm^2 aufweist, einen Objektträger mit einer Fläche von 125 mm^2 besitzt, der eine systematische Durchmusterung eines Gefäßabschnittes von 1 cm Länge und bis zu 1 cm Umfang überhaupt erst ermöglicht.

4. Laboruntersuchungen

a) Blutfette

Der Gehalt des Blutes an Cholesterin wurde im Auto-Analyzer (Firma Technicon Instruments Corporation USA) des Hauptlabors unserer Klinik mit einem enzymatischen Farbstest (CHOD-PAP-Methode der Firma Boehringer, Mannheim GmbH) bestimmt. Der Triglyceridgehalt des Blutes wurde ebenfalls im AutoAnalyzer mit dem Test "Triglyceride vollenzymatisch" (Boehringer Mannheim GmbH) gemessen.

b) Die Bestimmungsmethoden der übrigen gemessenen Parameter siehe im entsprechenden Kapitel.

B. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

I. VERHALTEN EINIGER SERUMPARAMETER

BEI 16 GESUNDEN UND 3 KRANKEN TIEREN

Wer mit Versuchstieren umgeht, ist immer wieder vor die Frage gestellt, ob der Allgemeinzustand der einzelnen Tiere untereinander vergleichbar ist. Für die Beurteilung und die Gewichtung von Ergebnissen ist eine klare Antwort auf diese Frage sehr wichtig. Eine solche Antwortmöglichkeit gewinnt noch an Bedeutung, wenn, wie in unserem Fall, morphologische Befunde erhoben werden, die sofort mit Fragwürdigkeit behaftet sind, sobald sich die Tiere bei schlechter Gesundheit befinden. Aus diesem Grund war das Augenmerk auf einige Serumparameter zu richten, die vielleicht in der Lage sein könnten, einen klinischen Eindruck zu präzisieren und vor allem eine prognostische Aussage zu begründen. Es handelte sich um die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, die Glutamat-Pyruvat-Transaminase, die alkalische Phosphatase, das Gesamtbilirubin, Kreatinin und Harnstoff. Es wurden die Untersuchungsunterlagen von insgesamt 35 Schweinen durchgesehen, die von unserer Arbeitsgruppe in den Jahren 1973 bis 1975 verschiedenen Experimenten unterzogen worden waren. Die Tiere, deren Werte zur Beurteilung herangezogen wurden, mußten insgesamt mindestens 14 Wochen in unseren Stallungen gehalten worden sein. Voraussetzung für die Aufnahme in die Untersuchung war weiterhin, daß sich die Tiere zum Zeitpunkt mindestens der ersten Messung bester Gesundheit erfreuten ($n = 19$). Alle Tiere hatten mindestens eine Operation, nämlich die unter II.2. beschriebene Katheterimplantation, hinter sich. Durch abweichende Labormethodik bedingte Unterschiede konnten das Ergebnis nicht beeinflussen, da alle Messungen

mit dem AutoAnalyzer des Hauptlabors unserer Klinik durchgeführt worden waren. Dort wurden im einzelnen bestimmt: GOT und GPT mit dem optimierten kinetischen Test der Firma Boehringer, die alkalische Phosphatase mit dem optimierten kinetischen Test der Firma Merck, das Gesamtbilirubin in einem optischen Test mit Sulfanilsäure [28], der Harnstoffstickstoff mit der Diacetylmonoxime-Methode [77] und das Kreatinin mit Hilfe der Jaffa-Reaktion mit Pikrinsäure [57].

Die Bestimmungen wurden meist in Wochenabständen durchgeführt, wobei als Woche der Rahmen von 7 ± 2 Tagen angesehen wird. Die aus den Unterlagen herausgesuchten Werte wurden einerseits in Beziehung zum Zeitverlauf, andererseits in Vergleich zum Gesundheitszustand gesehen. Dabei wurden die Tiere, die sich augenscheinlich in einem guten gesundheitlichen Zustand befanden ($n=16$), denen gegenübergestellt, die einen deutlich reduzierten Gesundheitszustand aufwiesen ($n=3$). Dieser eingeschränkte Allgemeinzustand äußerte sich durch die offensichtliche Bewegungsarmut, im Verzicht des Tieres auf Futter und in der minimalen Reaktion der vom Wesen her eigentlich lebhaften Tiere auf Außenreize. Der Krankheitseindruck wurde durch ausgeprägtes Hecheln, eine kalte, feuchte Haut, kühle, livide Ohren und die nur halb geöffneten Augen unzweifelhaft bestätigt. Alle drei Tiere starben schließlich, wohl an den Folgen einer Sepsis.

Zur Erläuterung der im folgenden aufgeführten Ergebnisse wird abschließend noch der Zeitverlauf der angesprochenen Serumparameter bei einem Tier dargestellt, das schon bei der ersten Blutentnahme wohl an einer ausgeprägten Infektion litt und deshalb in die Betrachtungen nicht einbezogen wurde. Im einzelnen hat die Auswertung der Betrachtungen an 19 Tieren folgende Ergebnisse erbracht:

1) Über den zetilichen Verlauf des Blutgehaltes an alkalischer Phosphatase gibt die Abbildung 1 Auskunft.

Der durchschnittliche Plasmaspiegel der alkalischen Phosphatase sinkt also bis zur dritten Wiche deutlich ab, nämlich von 148 I.E. in der ersten über 130,5 I.E. in der zweiten auf 103,7 I.E. in der dritten Woche, während in den darauffolgenden Wochen nur noch ein geringer Abfall zu verzeichnen ist.

2) Ähnliches ergab sich für die durchschnittliche Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, die von 21 I.E. auf 15,4 I.E. und schließlich in der dritten Woche auf 13,5 I.E. absank, ebenso wie für die Glutamat-Pyruvat-Transaminase mit einem Absinken von 35 I.E. über 26,8 I.E. auf 26,6 I.E. nach drei Wochen (s. Abb. 2 und 3).

3) Bei zwei der drei kranken Tiere kam es zu einem Aktivitätsanstieg der alkalischen Phosphatase von 120 I.E. auf 520 I.E. (Tier Nr.111) beziehungsweise von 156 I.E. auf 255 I. E. (Nr.103), während beim dritten Tier die Aktivität trotz weiterer Verschlechterung ihre sinkende Tendenz beibehielt.

4) Ebenfalls bei zwei der drei kranken Tiere zeigte sich im Laufe der Verschlechterung des Allgemeinzustandes ein Anstieg der GOT von 20 I.E. auf 45 I.E. (Nr.103) sowie von 10 I.E. auf 95 I.E. (Nr.111) beziehungsweise der GPT von 26 I.E. auf 35 I.E. (Nr.103) sowie von 26 I.E. auf 128 I.E. (Nr.111). Beim dritten Tier blieben die Transaminasen trotz schlechter Verfassung eher niedrig.

5) Der De-Ritis-Quotient, also das Verhältnis von GOT zu GTP, zeigt bei keinem der gesunden Tiere einen Wert, der größer ist als 1. Im Gegensatz dazu steigt diese Verhältniszahl bei zwei von drei kranken Tieren über einen Betrag von eins. Auch beim dritten Tier (Nr.111) steigt die GOT um das 9,5-fache, nämlich von 10 auf 95 I.E., dagegen die GTP nur um das 4,9-fache von 26 auf 128 I.E., so daß der Quotient fast doppelt so groß wird.

6) Das Gesamtbilirubin übersteigt bei den gesunden Tieren 0,4 mg% in keinem Fall, während dieser Wert bei allen drei Tieren mit reduziertem Allgemeinzustand überschritten wurde.

7) Der Plasmakreatininspiegel, dessen Extremwerte in der Gruppe der augenscheinlich gesunden Tiere bei 0,1 und 1,4 mg% liegen, schwankt bei den einzelnen Tieren nur geringfügig. Da die Schwankungen bei 14 der 16 Tiere in guter Verfassung höchstens einen Bereich von 0,5 mg% umfassen, sollte ein Anstieg des Plasmakreatinins um mehr als 0,5 mg% in einer Woche zumindest an die Möglichkeit einer ernsteren Erkrankung denken lassen. Werte des Kreatininspiegels von mehr als 1,5 mg% deuten in jedem Fall auf eine Beeinträchtigung der Gesundheit hin, weil alle 16 Tiere mit Wohlbefinden niemals einen höheren Wert aufwiesen, während dies bei zwei der erkrankten Tiere (Nr. 109 und 111) der Fall war.

8) Der Harnstoffgehalt des Blutes zeigt weder einen charakteristischen Zeitverlauf noch einen verwertbaren Unterschied zwischen gesunden und kranken Tieren.

9) Als Nachtrag sei noch das Verhalten der oben genannten Serumparameter bei einem Tier (Nr.104) angeführt, das bereits die erste Katheterimplantation relativ schlecht überstanden hatte und deshalb für die Auswertung nicht in Frage kam:

Katheterimplantation am 6.11. 74

Datum	GOT	GPT	Alk.P.	$\frac{GOT}{GPT}$	Bili	Kreat	H'stoff	Red. Allg.zust.
8.11.	60	50	210	1,20	0,2	0,7	7	++++
14.11.	43	32	180	1,34	0,1	0,8	19	++++
21.11.	31	24	134	1,29	0,1	0,8	18	+++
29.11.	22	19	70	1,16	0,2	1,1	16	+
5.12.	16	15	50	1,06	0,1	1,0	16	+
12.12.	27	28	55	0,96	0,2	1,0	16	
19.12.	55	24	107	2,29	0,5	1,9	36	+++++

Am 28.12. verstarb das Tier, ohne sich erholt zu haben, in einem völlig desolaten Zustand.

Wie die Tabelle zeigt, war die in den ersten Wochen nach der Operation eingetretene Besserung vom Rückgang der Transaminasen und der alkalischen Phosphatase begleitet. Vor allem aber wird die gute Korrelation des De-Ritis-Quotienten zum Allgemeinbefinden eindrucksvoll dokumentiert. Auch der plötzliche Anstieg der Transaminasen, der alkalischen Phosphatase und des Plasmakreatinins 9 Tage vor dem Tod infolge einer massiven Sepsis entsprechen den oben abgeleiteten Eindrücken.

ALKALISCHE PHOSPHATASE

(Einzelmessung = X,
Durchschnitt einer Woche = O,
" dreier Wochen = □,
" 14. bis 21. Woche = ◇)

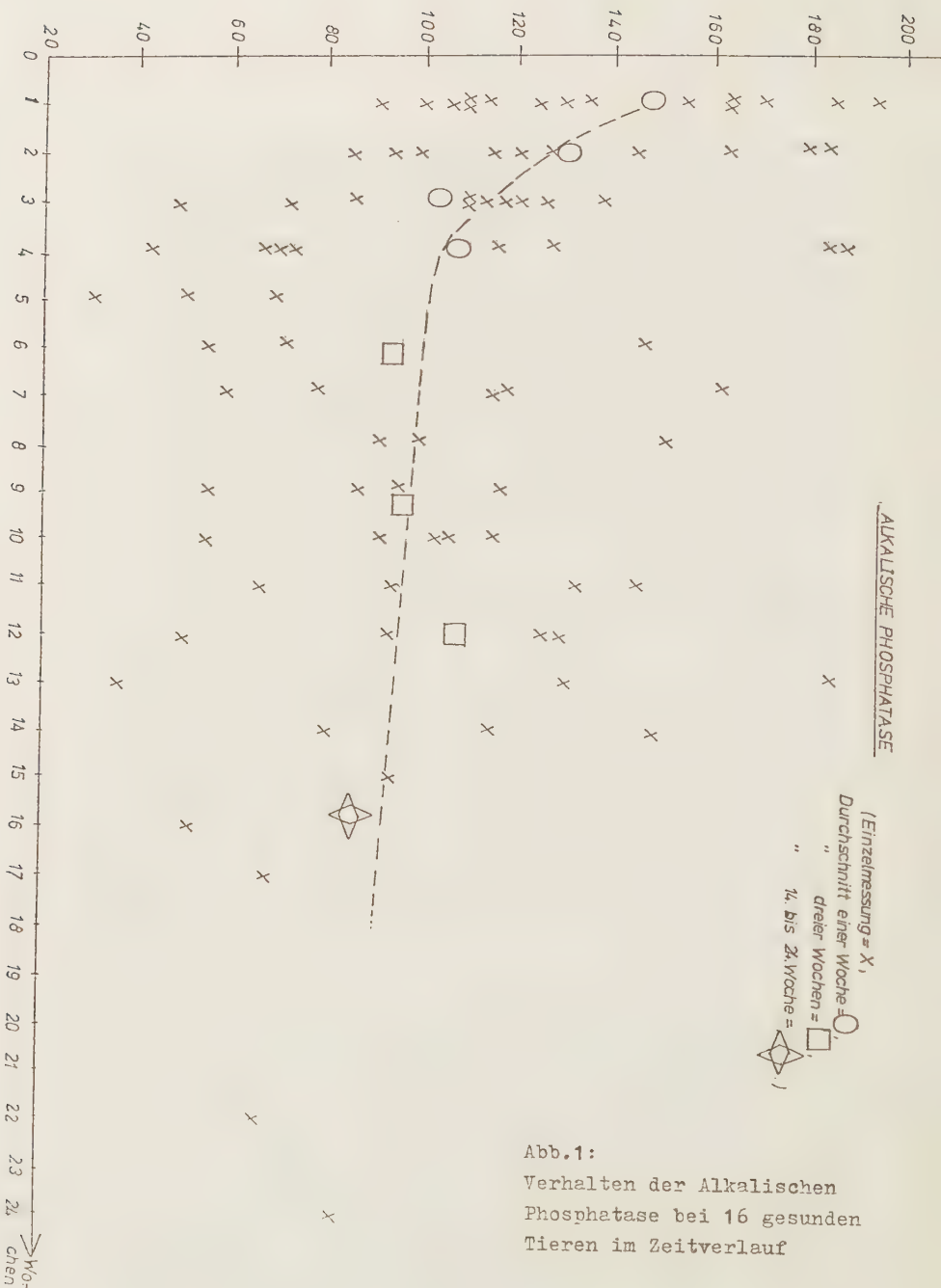


Abb.1:

Verhalten der Alkalischen
Phosphatase bei 16 gesunden
Tieren im Zeitverlauf

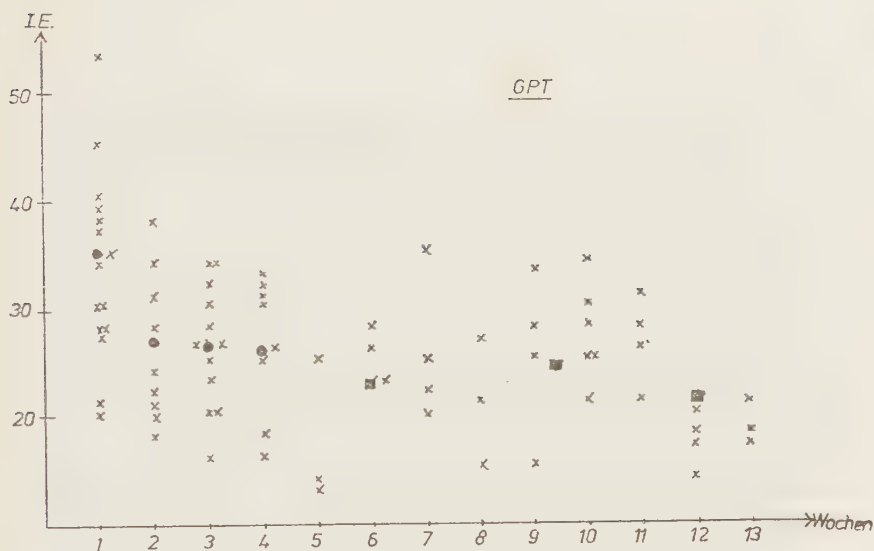


Abb. 2 und 3 : Verhalten der Plasmaaktivitäten
von GOT und GPT bei 16 gesunden
Tieren im Zeitverlauf

(Zeichenerklärung: Einzelmessung = x
Durchschnitt einer Woche = ●
Durchschnitt dreier Wochen = ■)

II. EXZESSIVE SACCHAROSEZUFUHR UND IHR EINFLUSS AUF BLUTFETTGEHALT UND ENDOTHELFLÄCHENMORPHOLOGIE

1. Literaturübersicht

Daß die Zunahme des Zuckerverbrauchs entscheidend mitverantwortlich für das Ansteigen der Mortalität an arteriosklerotischen Herzerkrankungen sein könnte [136], muß heute als widerlegt gelten [54]. Dennoch darf nicht von der Hand gewiesen werden, daß ein wenn auch nur kleiner Anteil der Nahrungskohlenhydrate an der Arteriosklerosemorbidity denkbar ist.

Bei einseitiger Kohlenhydraternährung kann es zu einer vorübergehenden [2] oder persistierenden Vermehrung der zirkulierenden Triglyceride kommen [1, 45, 112], wobei man von Kohlenhydratinduktion spricht [113]. Rohrzucker hat im Vergleich zu dem Polysaccharid Stärke einen deutlicher triglyceridsteigernden Effekt, der nur von dem Monosaccharid Fructose übertroffen wird [113]. Im Vergleich zu anderen Disacchariden ist der Effekt zwar nicht stärker [135], aber die Saccharose ist einfacher und billiger zu haben.

Analog der Hypertriglyceridämie bei einseitiger Kohlenhydraternährung findet sich bei einigen Studien auch eine geringgradige Erhöhung des Cholesterinspiegels im Blut [112]. Allerdings war in mindestens ebenso vielen Studien ein solcher kohlenhydratinduzierter Cholesterinanstieg nicht nachweisbar [78]. Zudem scheint dazu im Widerspruch zu stehen, daß schon seit längerem ein Abfall des Serumcholesterinspiegels des Menschen bei Diäten, die einen hohen Gehalt an Kohlenhydraten aufweisen, bekannt ist [45, 126]. Es zeigte sich aber, daß in dieser Hinsicht nicht alle Kohlenhydrate gleichsinnig wirken, weil der Ersatz der Nahrungssaccharose durch komplexe Kohlenhydrate, wie sie z.B. in Hülsen-

früchten enthalten sind, mit einem Abfall des Plasma-cholesterins verbunden war [35, 126], was letztlich der Saccharose einen cholesterinämischen Effekt zuschreibt. Epidemiologische Untersuchungen zeigen, daß eben nicht die Menge der Kohlenhydrate an sich, sondern die Menge der rasch resorbierbaren Kohlenhydrate mit dem Cholesterinspiegel korreliert [76], was die Bedeutung der Saccharose unterstreicht. Werden Saccharose und Leguminosenkohlenhydrate auf ihren cholesterinämischen Effekt hin verglichen, ergibt sich, daß unter Saccharose ein höheres Plasmacholesterin nachzuweisen ist als unter Hülsenfruchtextrakten [78], was sowohl für gesunde Normalpersonen als auch für Patienten mit Hyperlipidämie gezeigt werden konnte [66]. Eine Differenz ist auch nachzuweisen, wenn man Saccharose mit Stärke vergleicht [79], wobei es sich nur um eine relativ mäßige Erhöhung des Blutcholesterins unter Saccharose handelte, die allerdings wesentlich deutlicher ausfiel, als dieser Vergleich bei Patienten mit Hyperlipidämie angestellt wurde [66].

Bei Tieren konnten ähnlich Befunde erhoben werden, wie das für Hühner, Kaninchen und besonders auch Ratten nachgewiesen ist [78]. Allerdings bleibt analog zur disaccharidinduzierten Hypertriglyzeridämie [135] beim Menschen der Cholesteringehalt des Blutes nicht auf dem erhöhten Niveau. Er sank nämlich bei Ratten, die lange Zeit mit rohrzuckerreicher Nahrung gefüttert wurden, wieder auf normale Werte ab, nachdem sich zu Beginn der Fütterung zunächst ein Anstieg eingestellt hatte [78].

Neben diesen möglichen Wirkungen der Saccharose ist noch die Hypothese von Interesse, daß der Fasergehalt der Nahrung das Serumcholesterin senken kann, indem das Cholesterin adsorbiert und mit den unverdauten Fasern ausgeschieden wird [42, 131]. Fasern, die aus Kohlenhydraten bestehen (Cellulose, Lignin usw.), könnten in diesem Sinne wie ein Austauschharz wirken. Wenn es auch unwahrscheinlich erscheint, daß Cellulose maßgeb-

lich an einer solchen Wirkung beteiligt ist [78], sondern zum Beispiel eher das Pektin [99], sollte dennoch erwogen werden, in einem Versuch die faserreiche Nahrung von Versuchstieren teilweise durch reinen Rohrzucker zu ersetzen. Es sollte auf diese Weise nach den vorgenannten Befunden möglich sein, den Cholesteringehalt des Blutes anzuheben.

Die vorhandenen Berichte geben unserer Meinung nach genügend Anlaß zu prüfen, ob der Einfluß starker Saccharosezufuhr als Ersatz einer bestimmten Menge faserreichen Futters ausreicht, um eine Hypercholesterinämie zu erzeugen, die sich zum Studium der Atherogenese bei Hypercholesterinämie eignet.

2. Material und Methodik

Für die Untersuchung standen 3 Hanford-Miniaturschweine im Alter von 10 Wochen (Nr. 103: 20 kg, männlich), 15 Wochen (Nr.108: 25,5 kg, weiblich) und 6 Monaten (Nr.112: 50 kg, weiblich) zur Verfügung.

Beim ersten Tier (Nr.103) wurden zunächst fünf und zwei Tage vor Beginn der Saccharosefütterung die Leerwerte für Serumcholesterin, Triglyzeride und Blutglucose bestimmt. Es wurde 10 Tage mit einem Futter versorgt, dem zu 25 Gewichtsprozent Saccharose beigemischt war, bis es am Morgen des elften Tages vermutlich an akutem Rechtsherzversagen starb. Das Körpergewicht des Tieres hatte sich bis zum Tod nicht verändert. Bei der Eröffnung des toten Tieres mit Entnahme der rechten A.carotis und A.femoralis zeigte sich, daß sowohl der erste als auch der nach dessen Verschuß implantierte zweite Katheter mit ihrer Spitze im rechten Ventrikel des stark dilatierten Herzens lagen. Der Blutgehalt an Cholesterin, Triglyzeriden und Glucose wurde am sechsten und am siebenten Tag der Saccharosefütterung gemessen, nach-

dem das Tier bei durchschnittlich 1 kg Futter pro Tag insgesamt 2 kg beziehungsweise 2,2 kg Saccharose zu sich genommen hatte.

Das zweite Tier (Nr.108) erhielt drei beziehungsweise zwei Tage nach jeweiliger Leerwertbestimmung 33 Tage lang ebenfalls ein mit 25 % Saccharose ange-reichertes Futter, was bei 1 kg bis 1,3 kg Futter täglich einer Gesamtmenge von 8,5 kg Saccharose entspricht. Während dieser Zeit stieg das Körpergewicht des Tieres um 3,5 kg auf 29 kg an. Nun wurden die linke A. carotis, die linke A. femoralis und eine Unterschenkelarterie links entnommen und in üblicher Weise auf Thrombozyten-adhäsionen untersucht. Nach einer Pause von 11 Tagen, während der dem Tier Normalfutter angeboten wurde, ernährte es sich weitere 11 Tage von einer Mischung, die zu 50 Gewichtsprozent aus Saccharose bestand (insgesamt 6,3 kg Saccharose) und zu einer Körpergewichtszunahme auf 32 kg führte. Im Anschluß daran wurden die rechte A. femoralis und eine Unterschenkelarterie rechts der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung zugeführt. Für Cholesterin-, Triglyzerid- und Glucosebestimmungen wurde jeweils am 6., 12., 13., 21., 33., 34., 38., 44., 48., 52. und 55. Tag Blut aus dem Vorhofkatheter abgezogen.

Dem dritten Schwein (Nr.112) wurden nach den Leerwertbestimmungen am dritten und am letzten Tag vor Beginn der Saccharosefütterung innerhalb von 96 Tagen insgesamt 65 kg Saccharose als 50 % iges Futter zugeführt. Es standen ihm je nach Hunger 1 bis 2 kg Futter täglich zur Verfügung. Während der Versuchsdauer war ein Gewichtszuwachs um 20 kg auf 70 kg zu verzeichnen. Am 13.Tag des Fütterungsversuches wurde die A. femoralis rechts, am 61.Tag die linke A. femoralis und am 97.Tag die A. carotis rechts in üblicher Weise entnommen, fixiert und für das Rasterelektronenmikroskop zur Durchmusterung auf Thrombozytenadhäsionen vorbereitet. Die

Bestimmungen von Cholesterin-, Triglyzerid- und Glucosegehalt im Blut erfolgten am 5., 8., 12., 26., 40., 61., 67., 76., 83. und 97. Tag.

3. Ergebnisse

3.1. Cholesterin (s. Tab.2)

Die drei Tiere reagierten nicht einheitlich auf die Saccharose-Zufuhr. Während bei einem Tier (Nr.112) eine bemerkenswerte Änderung überhaupt nicht auftrat, zeigten die beiden anderen trotz eines jeweils vorliegenden Cholesterinspiegelanstiegs im Blut Unterschiede hinsichtlich des dazu notwendigen Saccharoseanteils am Futter. Bei Schwein Nr.103 stieg das Serumcholesterin von 80 mg% 5 Tage und 60 mg% 2 Tage vor Beginn der Saccharosefütterung auf jeweils 100 mg% am 6. beziehungsweise 7. Tag der Zufuhr einer Diät, die 25 Gewichtsprozent Saccharose enthielt. Dies entspricht einem Serumcholesterinanstieg von 43 % des Durchschnitts der beiden Leerwerte. Auf diese Ernährung reagierte das Tier Nr.108 nicht mit einer Veränderung im Blutgehalt an Cholesterin. Bei diesem Schwein zeigte sich jedoch nach Umstellung auf ein Futter, das zur Hälfte aus Saccharose bestand, eine Erhöhung des Serumcholesterins von vorher 70 beziehungsweise 80 mg% auf 115 mg% nach drei Tagen Fütterung mit 50 % Saccharose. Betrachtet man die beiden Messungen vor Fütterung (Mittelwert = 75 mg%) und die ersten beiden Messungen nach Fütterungsbeginn (Mittelwert = 110 mg%), so liegt eine Serumcholesterinerhöhung um 33 % des Ausgangswertes vor. Allerdings weist der Blutcholesterinspiegel bei diesem Tier im weiteren Verlauf fallende Tendenz auf, und zwar auf 105 mg% am 7.Tag der Saccharosefütterung beziehungsweise weitere drei Tage später 100 mg%.

Schwein	Leerwert	25 % Sacch.	50 % Sacch.
Nr. 103	80	100 (6.)	
	60	100 (7.)	
Nr. 108	95	80 (6.)	
	100	105 (12.)	
		100 (13.)	
		100 (21.)	
		90 (33.)	
	*) 70 (38.)		115 (48.)
	80 (44.)		105 (52.)
			100 (55.)
Nr. 112	85		85 (5.)
	65		85 (8.)
			80 (12.)
			70 (26.)
			85 (40.)
			80 (61.)
			115 (67.)
			85 (76.)
			100 (83.)
			90 (97.)

Tab.2: Serumcholesterin in mg% unter saccharosereicher Diät (in Klammern die Dauer der Saccharosefütterung bis zur Messung in Tagen)

3.2. Triglyzeride (s. Tab.3)

Das Verhalten der Triglyzeride war dem des Cholesterins bei den einzelnen Tieren sehr ähnlich. Während bei Schwein Nr.103 ein Anstieg von vorher 32 beziehungsweise 39 mg% auf 94 beziehungsweise 91 mg% schon nach 25-%igem Saccharosefutter zu verzeichnen war, reagierte Tier Nr.108 erst auf 50-%iges Saccharosefutter mit

*) = Diese beiden "Leerwerte" wurden während einer Normalfutterperiode zwischen zwei Saccharosefutterperioden gemessen.

einer Steigerung des Triglyzeridspiegels im Blut von 50 bzw. 35 mg% auf 81 mg%, der aber innerhalb von vier beziehungsweise sieben Tagen wieder auf 52 bzw. 64 mg% absank. Schwein Nr.112 zeigte keine auffallenden Änderungen im Triglyzeridgehalt des Blutes.

Schwein	Leerwert	25 % Sacch.	50 % Sacch.
Nr. 103	32 39	94 91	
Nr. 108	50 55	40 50 50 34 54	
	*) 50 35		81 52 64
Nr. 112	43 60		66 45 41 35 60 55 40 59 50 52

Tab.3: Serumtriglyzeride in mg% unter saccharose-reicher Diät

*) = Diese beiden "Leerwerte" wurden während einer Normalfutterperiode zwischen zwei Saccharose-futterperioden gemessen.

3.3. Glucose (s. Tab.4)

Der Glucosegehalt des Blutes zeitigte keine verwertbaren Veränderungen. Bei Tier Nr.103 scheint nach Saccharosezufuhr ein geringfügiger Abfall des Blutglucosespiegels einzutreten, jedoch läßt sich daraus sicher keine Aussage ableiten, da im Zeitverlauf des Blutzuckerspiegels bei den anderen Tieren auch innerhalb der einzelnen Fütterperioden ähnliche Schwankungen zu beobachten sind.

Schwein	Leerwert	25 % Sacch.	50 % Sacch.
Nr. 103	65 60	46 46	
Nr. 108	55 57	55 55 44 46 51	
	*) 60 50		60 50 56
Nr.112	86 55		53 45 56 48 55 65 50 51 45 52

Tab.4: Blutglucose in mg% unter saccharosereicher Diät

*) = Diese beiden "Leerwerte" wurden während einer Normalfutterperiode zwischen zwei Saccharosefutterperioden gemessen.

3.4. Morphologie

Die beiden postmortal entnommenen Gefäße (A. carotis und A. femoralis rechts, Tier Nr.103) lassen zwar keine Strukturen erkennen, die als Thrombozyten in visköser Metamorphose bezeichnet werden könnten. Sie zeigen jedoch ausgeprägte Veränderungen des Endothels, die an der Beurteilbarkeit dieser Gefäße im Sinne der vorliegenden Fragestellung starke Zweifel aufkommen lassen. Aus diesem Grunde wurde auf die Wiedergabe einer Abbildung verzichtet.

Bei den anderen zwei Tieren, deren Gefäße in üblicher Weise intravital entnommen wurden, läßt sich ein einheitlicher und für alle Gefäße repräsentativer Befund des Arterienendothels nicht erheben.

Trotz der unter Fütterung von saccharosereicher Nahrung praktisch unveränderten Blutlipide zeigen nur drei Femoralarteien (von Tier 108 und 112) einen Endothelfund, der dem unvorbehandelter Tiere entspricht. Ein solcher Befund wird in einer 1000-fachen Vergrößerung durch Abb.4 demonstriert.

Es dominiert der Eindruck des teils angedeuteten, teils deutlich hervortretenden Längsfaltenreliefs, dessen anatomisches Substrat vermutlich in der *Elastica interna* zu suchen ist. Diese stellt bekanntlich eine gewellte, aus elastischem Material bestehende Membran dar, der das Endothel anliegt, und ist bei mittelgroßen Arterien gut ausgebildet [132].

Die Endothelzellkerne sind als eher längsorientierte rundliche bis spindelförmige Erhabenheiten zu beschreiben, deren Größe mit bis zu 15 μ Länge die eines Thrombozyten um mindestens das Fünf- bis Siebenfache überschreitet. Gelegentlich sind auf den Endothelzellen kleine körnige Auflagerungen sichtbar, die nicht größer als 0,5 μ sind. Einige der Endothelzellen erwecken den Eindruck, als lösten sie sich gerade aus dem Endothel-



Abb.4: Linke A.femoralis (Tier Nr.112) in 1000-facher Vergrößerung: intaktes Endothel ohne Auflagerungen mit zahlreichen aufgeworfenen Endothelzellkernen

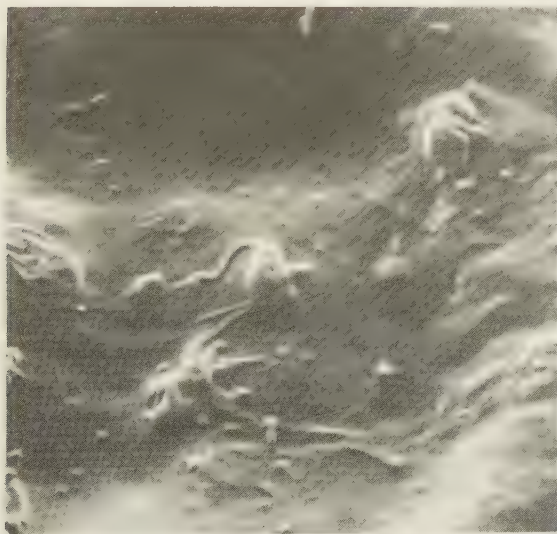


Abb.5: Linke A.carotis (Tier Nr.108) in 5000-facher Vergrößerung: Thrombozyten in einer etwas früheren Ausbreitungsphase

zellverband heraus, weil sich ihre Umrisse wesentlich strukturierter darstellen und mit einem kleinen Schwänzchen versehen sind. Möglicherweise handelt es sich hier um Endothelzellen, die im Abschliffen begriffen sind.

Auf der linken A. carotis von Tier Nr.108, die nach 33 Tagen Zufuhr eines 25%-igen Saccharosefutters untersucht wurde, stellen sich, wenn auch nur vereinzelt, singuläre Thrombozytenadhäsionen dar. Die Abbildung 5 (5000-fache Vergrößerung) läßt das intakte Endothel erkennen, auf dem sich drei Thrombozyten in einer etwas früheren Phase der viskösen Metamorphose finden. Der mehr in der rechten oberen Ecke der vorliegenden Abbildung dargestellte adhärente Thrombozyt mit seiner unregelmäßig strukturierten Oberfläche scheint gerade in der Ausbildung von Pseudopodien begriffen, die bei den zwei anderen abgebildeten Blutplättchen bereits deutlich sichtbar sind.

Die rechte A. carotis des Tieres Nr.108 (Abb.6), die 11 Tage nach der Umstellung des Tieres auf 50%-iges Saccharosefutter entfernt wurde, hinterläßt einen völlig anderen Eindruck. Hier dominiert zwischen unauffälligen Endothelabschnitten das Bild einzelner Bereiche, auf denen ballonreifenförmige Gebilde einer Größe von 6 bis 8 μ in höherer Anzahl zu finden sind. Größe und Form legen die Interpretation dieser Strukturen als Erythrozyten nahe. In der unmittelbaren Umgebung einzelner Erythrozyten läßt das Endothel faserige bis strangförmige Strukturen erkennen, die als Fibrinniederschläge gedeutet werden können. Allerdings ist nicht auszuschließen, daß sich zwischen den Erythrozyten und dem Endothel noch Thrombozyten befinden, deren Pseudopodien gelegentlich Fibrinfäden sehr ähnlich sehen können. Bestätigt wird diese Möglichkeit durch die Tatsache, daß es sich bei den ca. 1,5 bis 2,5 μ großen an der Oberfläche haftenden Körperchen, die in der Mitte des oberen

Bilddrittels als kleine Reihe im Endotheltal zu sehen sind, durchaus um Blutplättchen in einer frühen Phase der viskösen Metamorphose handeln könnte. Die zur gleichen Zeit entnommene Herzkranzarterie dieses Tieres zeigt die eben beschriebenen Veränderungen in ähnlicher Weise und Ausprägung.

Vergleicht man diese Befunde mit dem 2000-fach vergrößerten Gefäßabschnitt der linken A. carotis bei Tier Nr.112 nach 27 Tagen Fütterung mit 50%iger Saccharosekost (Abb.7), so fallen vor allem die völlig unregelmäßig geformten Auflagerungen auf, die zu zerfließen scheinen. Es dürfte sich, nach der Größe der abgrenzbaren Partikel innerhalb der scheinbar konfluierenden Strukturen zu urteilen, um Erythrozyten handeln, die während Hämolyse fixiert wurden.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß bei den Versuchen, mit Zufuhr relativ großer Mengen von Saccharose eine Hypercholesterinämie zu erzeugen, nur bei den untersuchten Femoralarterien eine von Auflagerungen aus dem strömenden Blut freie Endotheoberfläche vorzufinden war. Im Gegensatz dazu konnten auf der Gefäßinnenfläche der untersuchten Aa. carotides und einer Koronararterie geformte Elemente des Blutes nachgewiesen und damit Befunde erhoben werden, die bei unbehandelten Tieren nicht vorkommen.

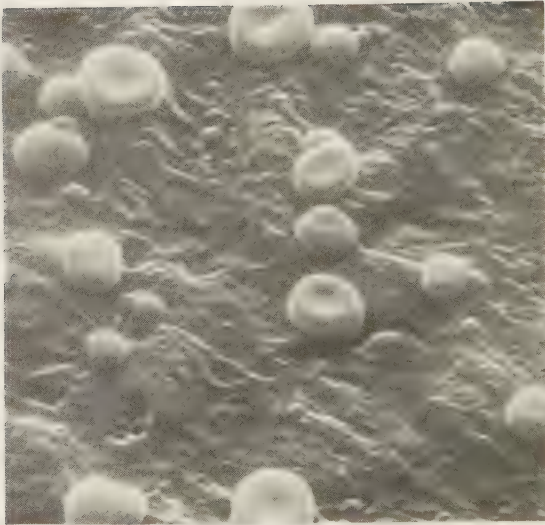


Abb.6: Rechte A. carotis (Tier Nr.108) in 2000-facher Vergrößerung: Erythrozyten und einige Thrombozyten (unterhalb des Pfeiles)



Abb.7: Linke A. carotis (Tier Nr.112) in 2000-facher Vergrößerung: hämolysierte Erythrozyten

4. Diskussion

Bei den drei untersuchten Tieren war durch die Zufuhr eines 25- bzw. 50%igen Saccharosefutters eine Hypercholesterinämie, die zu Thrombozytenadhäsionen an der Gefäßwand hätte führen können, nicht zu erzielen.

Die Serumcholesterinerhöhung bei zwei Tieren um 43 bzw. 33% in der ersten Woche, nachdem die Ernährung mit dem entsprechenden Futter begonnen wurde, sollten vorsichtig beurteilt werden. Zum ersten lagen die Leerwerte deutlich im unteren Normbereich, zum zweiten überschritten die Werte niemals den Normalwert plus zweifache Standardabweichung, also 128,9 mg% [85], und zum dritten war der beobachtete Zeitraum relativ kurz. So konnte zum Beispiel nicht mehr verfolgt werden, ob der zu verzeichnende Rückgang des Cholesterinspiegels bei Tier Nr. 108 weiterhin fortgeschritten wäre. Zudem verhinderte der plötzliche Tod von Tier Nr. 103 verbindliche Beurteilung, was von der beobachteten Lipidspiegelreaktion zu halten ist. Eine weitere Mahnung zur Vorsicht ist die Tatsache, daß bei Tier Nr. 108 in der ersten Woche nach Beginn der Saccharosefütterung sogar ein Absinken des Serumcholesterins von vorher 100 auf nachher 80 mg% zu verzeichnen ist. Eine weitere Woche später wurden wiederum 105 bzw. 100 mg% gemessen. Aus diesen und ähnlichen Schwankungen bei Tier Nr. 112 ist zu ersehen, daß der Cholesterinspiegel der Versuchstiere bestimmten mehr oder minder zufälligen Änderungen in dem gemessenen Rahmen unterworfen ist, die einen direkten Zusammenhang mit der Saccharosefütterung bezweifeln lassen.

Das Tier mit der höchsten Cholesterinspiegelerhöhung von 43 % des Ausgangswertes ist Schwein Nr.103, das jüngste der drei und einzige Männchen. Es gibt einige Berichte, nach denen das Geschlecht die Antwort des Lipidstoffwechsels auf Nahrungskohlenhydrate beeinflusst

[78]. Hyperlipämie nach Kohlenhydratzufuhr soll bei weiblichen Individuen vergleichsweise seltener vorkommen als bei männlichen [78]. Frauen vor der Menopause reagieren in bezug auf Cholesterin- und Triglyzeridspiegel wesentlich weniger auf Diäteinflüsse als Männer oder Frauen in der Postmenopause [34], was bei Menschen demonstriert wurde [78]. Ähnliche Befunde liegen von Pavianen vor [78]. Es ist also denkbar, daß unsere weiblichen Versuchstiere einen stabileren Lipidhaushalt unter dem Einfluß bestimmter diätetischer Maßnahmen aufweisen als die männlichen. Derartige Deutungsversuche sind natürlich mit der vorliegenden Individuenzahl in keiner Weise belegbar.

Betrachtet man das Alter der Tiere, läßt sich noch ein zusätzlicher Aspekt ableiten. Das sechs Monate alte Schwein entwickelte überhaupt keine mit der Saccharosefütterung verknüpfbare Cholesterinerhöhung, während das erst 2 1/2 Monate alte Tier bereits auf die 25%ige Saccharosenahrung mit einem Anstieg des Serumcholesterins reagierte. Das fast vier Monate alte Tier wies erst Blutlipidveränderungen auf, als der Anteil des Rohrzuckers am Futter auf 50 % verdoppelt worden war. Diesen Beobachtungen ist Beachtung zu schenken, nachdem gewisse altersbedingte Unterschiede im Lipidstoffwechsel beim Miniaturschwein nachgewiesen sind [141].

Ohne unfruchtbaren Spekulationen Vorschub zu leisten, ist es vertretbar, Alters- und Geschlechtsdifferenzen bei der Betrachtung der berichteten Ergebnisse als mögliche Ursachen für das unterschiedliche Verhalten der Individuen im Lipidstoffwechsel ins Auge zu fassen. Dies gilt um so mehr, als ähnliche Beobachtungen auch für den Triglyzeridgehalt des Blutes gemacht wurden: deutlich Erhöhung bei dem 2 1/2 Monate alten Männchen, weniger ausgeprägte Reaktion nach Verdoppelung des Saccharoseanteils bei dem viermonatigen und fehlende Triglyzeridspiegelerhöhung bei dem halbjährigen Weibchen.

Die Analogie zwischen Triglyzerid- und Cholesterin-gehalt des Blutes erscheint einleuchtend, da bei exzessiver Kohlenhydratzufuhr ebenso wie beim Vergleich der Reaktion normo- und hyperlipämischer Patienten auf unterschiedliche Kohlenhydrate diskutiert wird, ob nicht die Serumcholesterinerhöhung als Folgeerscheinung der Bluttriglyzeriderhöhung zu interpretieren ist.

Daß eine Hypercholesterinämie ausblieb, dürfte auf mehrere Tatsachen zurückzuführen sein. Erstens waren die Versuchstiere vor dem Versuch alle normolipämisch. Man weiß von Untersuchungen am Menschen, daß deutliche Unterschiede zwischen normo- und hyperlipämischen Individuen hinsichtlich der Blutlipidantwort auf diätetische Manipulationen der Kohlenhydratzufuhr bestehen. Während nämlich die cholesterinsteigernde Wirkung des Ersatzes von Stärke durch Saccharose bei Normolipämikern nur geringfügig war, zeigte sich bei Hyperlipämikern ein deutlicher Anstieg des Plasmacholesterins, wenn Stärke durch Rohrzucker isokalorisch ersetzt wurde [34]. Zweitens darf nicht vergessen werden, daß die Tiere cholesterinfrei ernährt wurden. Wie von einigen Tierversuchen her bekannt ist [25, 38, 135], können Unterschiede in der Wirkung auf den Cholesterinspiegel, die durch Austausch verschiedener Kohlenhydrate untereinander bewirkt werden, verschwinden, wenn das Futter ohne Cholesterinzusatz verabreicht wird. Die doch sehr einseitige Faserkost ist offensichtlich durch die Zugabe von Rohrzucker noch lange nicht mit einer auch z.B. einen bestimmten Anteil Fette enthaltenden gemischten Kost zu vergleichen, wie sie Omnivoren und damit auch das Schwein sicher vertragen könnten.

Augenscheinlich spielen bei der Beeinflussung des Serumcholesterins durch Kohlenhydrate gar nicht diese allein die entscheidende Rolle, sondern es kommt auf das Zusammenspiel der einzelnen Nahrungsbestandteile untereinander an [101], zu deren Spektrum zum Beispiel

auch die Nahrungsfette und mit Einschränkungen das Nahrungscholesterin gehören.

Schließlich sollte beachtet werden, daß verschiedene Tierarten auf die gleichen diätetischen Maßnahmen unterschiedlich ansprechen [78, 101]. Die in der Literaturübersicht aufgeführten Befunde haben zum Teil sicher nur begrenzte Gültigkeit, wie diese orientierenden Versuche am Miniaturschwein einmal mehr zeigen konnten.

Was nun den morphologischen Aspekt und eigentlichen Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit anbelangt, so sind als wohl auffälligster Befund die Erythrozytenauflagerungen auf jeweils einer A. carotis von Tier Nr. 108 und 112 zu nennen. Eine solche Beobachtung ist von Gefäßen durchaus bekannt, bei denen der Zeitraum zwischen der Präparation des Gefäßes und der endgültigen Entnahme aus topografisch-anatomischen Gründen vergleichsweise länger dauert, wie zum Beispiel Koronararterien [85], die ja zudem vom Querschnitt her kleinere Arterien darstellen. Auf der Innenfläche von Aa. carotides jedoch waren solche Bilder bis jetzt an unserer Klinik noch nicht beobachtet worden, obwohl sie an sich gut denkbar sind, wenn nämlich nach der Entnahme die Spülung der Gefäßinnenfläche nicht mit genügender Gründlichkeit erfolgt. Eine solche rein technische Ursache ist jedoch unwahrscheinlich, wenn man bedenkt, daß es sich um zwei Gefäße zweier verschiedener Tiere des gleichen Versuchsmodells handelt und derartige Veränderungen sonst bei Aa. carotides nicht vorgekommen sind. Aufgrund der Tatsache, daß keine weitergehenden Untersuchungen im Rahmen des vorliegenden Tierexperiments durchgeführt wurden, die zur Postulation einer erhöhten Erythrozytenadhäsionsneigung infolge definierter Mechanismen berechtigen könnten, muß auf eine kausale Deutung des beobachteten Phänomens im abgesteckten Rahmen verzichtet werden. Dabei sollte festgestellt werden, daß eine Interpretation dieser Erythrozytenauflagerungen auf dem Endothel als

Ausdruck wandnaher Gerinnungsvorgänge unwahrscheinlich ist, insbesondere nachdem eine Fibrinfaserverknüpfung nicht nachgewiesen werden kann. Die Hämolyse der an der Gefäßwand haftendes Erythrozyten, wie sie bei der A. car-tis von Tier Nr.112 zu beobachten ist, sollte aus der präparativen Behandlung des Gefäßes nach der Entnahme heraus zu erklären sein. Es ist naheliegend, daß der Flüssigkeitsstrahl, mit dessen Hilfe die Spülung der Präparatoberfläche vor der Fixation durchgeführt wird, um lose Auflagerungen zu entfernen, bei Tier Nr.112 mit größerer Intensität auf das Gefäß gerichtet wurde als bei Tier Nr.108.

Als erstaunlich ist der Befund zu werten, daß auf Fe-moralarterien überhaupt keine Auflagerungen von Elemen-ten des strömenden Blutes zu finden waren, während im Bereich der Halsschlagadern neben den bei zwei Gefäßen nachgewiesenen Erythrozyten am Endothel vereinzelte Thrombozyten teils nachzuweisen, teils nicht auszu-schließen waren. Nachdem davon ausgegangen werden kann, daß sich weder der Gehalt des Blutes an Cholesterin noch der an Triglyceriden in verwertbarem Umgang verändert hat, sind die gelegentlich nachgewiesenen Thrombozy-tenadhäsionen mit aller gebotenen Vorsicht auf die übersteigert saccharosehaltige Ernährung der Versuchs-tiere an sich zurückzuführen. Trotz unveränderter Blut-lipide entsprechen die Befunde der saccharosereich ge-fütterten Tiere also nicht denen unvorbehandelter Minia-turschweine. Zwar handelt es sich bei den nachgewiesenen Veränderungen nicht um einen Thrombozytenrasen in der bekannten Ausprägung, aber es waren durchaus einige ver-einzelte Blutplättchen in verschiedenen Stadien der viskösen Metamorphose nachzuweisen. Das Ausmaß der Throm-bozytenbeeinflussung hinsichtlich der adhäsiven Eigen-schaften ist in Relation zur Reizintensität zu betrach-ten [49]. Gemessen an der geringen Zahl adhärenter Throm-bozyten am Endothel einiger der untersuchten Arterien

kann Saccharosefütterung nur als geringfügiger Reiz bezeichnet werden. Dennoch könnten die vorliegenden Befunde einen kleinen Anhaltspunkt für die oben dargelegte Möglichkeit liefern, daß dem hohen Zuckerverbrauch in den zivilisierten Ländern ein wenn auch fast verschwindender Anteil an der erhöhten Arteriosklerosemorbidity zukommt. Eine solche Anschauung ist denkbar, weil die trotz unveränderten Endothels aufgetretenen wenigen Thrombozytenadhäsionen als Zeichen einer minimalen Adhäsivitätssteigerung aufgefaßt werden dürfen [46, 47, 48]. Über in diesem Zusammenhang mögliche Mechanismen läßt sich eine vertretbare Aussage aus der Sicht der vorliegenden Versuche guten Gewissens nicht ableiten. Dessen ungeachtet kann die Vermutung ausgesprochen werden, daß gesteigerte Zufuhr von Rohrzucker im Verbund mit den verschiedenen Risikofaktoren durchaus einen kleinen Mosaikstein im Bild der Arteriosklerose darstellen könnte.

Im Rahmen der vorliegenden Fragestellung jedoch erscheint eine Nutzung dieses Saccharosemodells nicht möglich. Die erzielbare Steigerung der Thrombozytenadhäsivität ist offenbar zu gering und das verwendete Modell zu grob für die hier vorliegenden Reizintensitäten, als daß sich die Zufuhr einer stark saccharosehaltigen Nahrung für ein Modell zur Überprüfung antiadhäsiver Wirkung von Pharmaka eignen könnte.

III. AUSWIRKUNG DER THYREOIDEKTOMIE AUF CHOLESTERIN- UND TRIGLYZERIDSPIEGEL SOWIE ENDOTHELOBERFLÄCHE

1. Literaturübersicht

Unsere bisherigen Versuchsmodelle zur Erzeugung eines erhöhten Blutgehaltes an Cholesterin beim Miniaturschwein zielten vor allem auf eine exogene beziehungsweise alimentäre Hypercholesterinämie ab. Die Gabe von Nahrung mit einem hohen Saccharoseanteil zeitigte den gewünschten Erfolg nicht und mußte daher fallengelassen werden (s. Kap.II). Bei der Verabreichung von cholesterinangereichertem Futter besteht trotz der guten Ergebnisse der kleine Nachteil geringfügiger Unsicherheitsfaktoren, wie z.B. die bei Lebewesen unvermeidbaren Variationen im täglichen Futterbedarf, die unterschiedliche Menge Wassers, die zum Futter genommen wird, oder interindividuelle Differenzen in Resorption und Verstoffwechselung des oral aufgenommenen Cholesterins [128]. Zudem ist das reine Cholesterin verhältnismäßig teuer. So erscheint ein orientierender Versuch durchaus sinnvoll, durch einen gezielten Eingriff in den Stoffwechsel den Serumcholesterinspiegel endogen anzuheben.

Schon seit langem wird von Einflüssen der Schilddrüsenhormone auf den Serumcholesterinspiegel berichtet, und zwar ist in nahezu allen Fällen von primärer Schilddrüsenunterfunktion mit einem Anstieg des Serumcholesterins zu rechnen [4, 6, 60, 68, 104, 117]. Bei Berichten über ausbleibende Hypercholesterinämie handelt es sich oft um Fälle von hypophysärem Myxödem sowie um Fälle, die mit einer Struma einhergehen, wie etwa die Hypothyreosen nach Resorcin [3].

Als versucht wurde, zur Behebung oder Besserung schwerster Angina-pectoris-Anfälle die totale Schilddrüsenexstirpation durchzuführen, zeigten die Kontrollen nach

der Operation in allen Fällen außer myxödematösen Erscheinungen einen zunehmenden Anstieg des Serumcholesterinspiegels auf 500 mg% und mehr [57, 115]. Nach der Erfahrung amerikanischer Autoren kommt es in der Folge einer totalen Thyreoidektomie zu einem deutlichen Cholesterinanstieg im Blut, der meistens mit dem Abfall des Grundumsatzes parallel geht [121].

Neben der ausgeprägten Hypercholesterinämie sind auch die Blutwerte für Neutralfett, Phospholipide, β -Lipoproteide sowie die Chylomikronenfraktion erhöht, was für alle bisher untersuchten Säugetiere sowie Hühner gilt [55]. Im Rahmen der thyreogenen Hypercholesterinämie ist weder das Muster der einzelnen Serumlipide noch das der Lipoproteine in spezifischer Weise verändert [111]. Die Befunde entsprechen denen bei einer primären Hypercholesterinämie [117].

Die Erhöhung der Spiegel sämtlicher Fettfraktionen einschließlich der Carotine gilt als wichtiger diagnostischer Hinweis [4, 15, 57, 68] und eines der besten Kriterien, um die Wirksamkeit einer Therapie mit Schilddrüsenpräparaten zu testen [3, 4, 57]. Es ist durchaus möglich, die Kontrolle der Substitutions-therapie einer Hypothyreose anhand des Cholesterinspiegels durchzuführen, da aufgrund der guten Korrelation der Gehalt des Blutes an Cholesterin bei Abwesenheit primärer Fettstoffwechselstörungen als ein brauchbarer Indikator für die ausreichende Versorgung der Peripherie mit Schilddrüsenhormon gelten kann [98].

Der Fettstoffwechsel wird von Schilddrüsenhormon durch Anregung der Synthese und des Umsatzes von Cholesterin und Phospholipiden bei Drosselung der Fettsäuresynthese beeinflusst [68]. So ist die Genese der Hypercholesterinämie bei Hypothyreose darin zu sehen, daß offenbar die infolge Hormonmangels erniedrigte Cholesterinbiosynthese weniger zur Geltung kommt als die Verminderung von Abbau und Ausscheidung des Cholesterins

[33]. Aus Untersuchungen mit markiertem Cholesterin ist bekannt, daß bei Hypothyreose die Ausscheidung des Cholesterins und der Gallensäuren herabgesetzt ist [4]. Ebenso konnte mit markiertem Acetat gezeigt werden, daß dieses bei drei myxödematösen Frauen um das Fünffache weniger zur Cholesterinsynthese ausgenutzt wurde als bei sechs Vergleichspersonen [4]. Auch konnte die Hemmung der Cholesterinsynthese in der Leber nach Thyreoidektomie überzeugend nachgewiesen werden [4].

Das Auftreten von Hypercholesterinämie dürfte sicher seinen Teil zum erhöhten Arterioskleroserisiko hypothyreoter Patienten beitragen [3, 15]. Eine schon angelegte Arteriosklerose wird bei Hypothyreose auf Grund progredienter Gefäßveränderungen verstärkt, das Risiko eines cerebralen oder myokardialen Insultes nimmt deutlich zu [69]. Ob es sich hier allein um eine hyperlipidämische Erscheinung handelt oder ob die Hypothyreose per se schon ein Risikofaktor ist, kann wohl schlüssig noch nicht beantwortet werden. Die Hypothyreose begünstigt ohne Zweifel die Ablagerung von Cholesterin in der Gefäßwand und führt schon beim Jugendlichen zu schweren Koronar- und Aortensklerosen [6]. Thyreoidektomie bei jungen Tieren, z.B. Schafen und Ziegen, führt zu einer schweren Arteriosklerose der großen Gefäße [32], die durch Fütterung von Schilddrüsenhormon verhindert werden kann. Schilddrüsenblockierende Substanzen, z.B. Thiouracil, können eine Cholesterinfütterungsatheromatose deutlich verstärken [110]. Bei Hunden, die auf Cholesterinfütterung allein nicht oder nur geringfügig mit einer Atheromatose antworten, gelang es, unter Cholesterinfütterung schwere Atherosklerosen zu erzeugen, wenn die Schilddrüse extirpiert oder chemisch blockiert wurde [110]. Unter Thiouracil allein entwickeln die Tiere erst nach längerer Zeit Atherosklerosen, wobei das Blutcholesterin stark ansteigt [110].

Alle diese aufgeführten Tatsachen lassen es als erprobenswerten Weg erscheinen, die Erzeugung einer Hypercholesterinämie durch Totalexstirpation der Schilddrüse zu versuchen. Es könnte dann im Rahmen unseres Versuchsmodells mit dem Rasterelektronenmikroskop geprüft werden, ob diese Hypercholesterinämie ebenfalls wie diejenige alimentären Ursprungs regelmäßig zu Thrombozytenadhäsionen auf der Innenfläche von Arterien führt.

2. Material und Methodik

Bei den Versuchstieren handelte es sich um drei Hanford-Miniaturschweine mit einem Gewicht von 15 kg (2 Monate, weiblich, Nr.104), 39,5 kg (5 Monate, weiblich, Nr.109) und 54 kg (6 Monate, männlich, Nr.114).

Bevor wir die Tiere der Thyreoidektomie unterzogen, wurde ihnen aus dem in üblicher Weise implantierten Vorhofkatheter Blut für Cholesterin- und Triglyzerid-leerwertbestimmung entnommen. Außerdem wurde bei Tier Nr.104 drei Tage vor dem und am Operationstag sowie bei Tier Nr.109 am Vortag der Operation eine heparinisierte Blutprobe von 10 ml zentrifugiert und das Plasma bei - 20 ° C eingefroren. Etwa zwei Wochen nach der Thyreoidektomie wurde von den beiden Tieren Nr. 104 und 109 wiederum heparinisiertes Blut zentrifugiert und das Plasma zusammen mit den drei eingefrorenen Proben in ein endokrinologisches Labor* gebracht. Bei Tier Nr.104 war es uns noch möglich, drei und fünf Wochen nach der Thyreoidektomie Schilddrüsenhormonkontrollen durchführen zu lassen. Bestimmt wurden dort der Thyroxingehalt mit dem 'competitive protein binding assay' (T₄-CPBA) und

* Wir danken dem Labor von Prof.Scriba für die freundlicherweise durchgeführten Untersuchungen.

die freie Thyroxin-Bindungskapazität mit dem sogenannten 'freien T_3 - ^{125}J ' (T_3 -Test), aus denen der 'Index des freien Schilddrüsenhormons' ("freier T_4 -Index") mit:

$$\text{Freier } T_4\text{-Index} = \frac{\text{Gesamtthyroxin} \times \text{freies } T_3\text{-}^{125}J}{100} \quad [39]$$

zu berechnen ist, der die Aussagekraft der oben genannten Untersuchungen vergrößert. Die Normalbereiche dieser Schilddrüsenparameter werden vom Labor folgendermaßen angegeben [118]:

T_4 -CPB-A (4,5 - 10,0 $\mu g\%$)

T_3 -Test (32 - 42 %)

Index (0,2 - 3,8)

Beim dritten Tier konnten leider aus technischen Gründen erst 6 Wochen nach der Schilddrüsenentfernung der T_4 -CPB-A und der T_3 -Test bestimmt werden.

Die postoperativen Werte des Serumcholesterins und der Triglyzeride im Blut wurden bei Tier 104 am 7., 15., 22., 29., 36. und bei Tier 109 am 6., 8., 11., 14., 18., 26. Tag nach der Thyreoidektomie gemessen. Leider gerieten die beiden Tiere nach vier beziehungsweise drei Wochen in einen schlechten gesundheitlichen Zustand und verstarben am 47. (Nr.104) bzw. 32. (Nr.109) Tag nach der Thyreoidektomie an den Folgen einer Sepsis. Da die Versuchsanlage längerfristig geplant war, war, durch den plötzlichen Tod bedingt, jeweils nur die Entnahme einer Arteria femoralis möglich, die bei Tier Nr.104 am 22. beziehungsweise bei Tier Nr.109 am 14. Tag nach der Schilddrüsenoperation durchgeführt wurde.

Aufgrund der schlechten Erfahrungen bei den ersten beiden Tieren, die, wie berichtet, von einer schweren Infektion heimgesucht worden waren, entfernten wir beim dritten Tier (Nr.114) bereits nach 14 Tagen den Vorhofkatheter, um diese potentielle Eintrittspforte für Keime vorsichtshalber zu beseitigen. Danach wurde das Schwein

für fast vier Wochen völlig unbehelligt gelassen, bis am 36.Tag nach Thyreoidektomie erneut ein Vorhofkatheter implantiert wurde, den wir am 62.Tag wieder zogen. Nun wurde das Tier erst nach 3 Monaten wieder operiert, so daß ihm am 156.Tag wiederum Blut abgenommen werden konnte. Die Blutfette wurden untersucht am 7., 14., 39., 42., 51., 56., 62. und 156. Tag, nachdem die Schilddrüse operiert worden war. Wir entfernten die rechte A. carotis am 7.Tag, die linke A. carotis am 36.Tag, die A. femoralis rechts am 62.Tag sowie die A. femoralis links bei der letzten Operation mit Herzentnahme am 156.Tag. Alle entnommenen Gefäße wurden in der üblichen Weise fixiert und der Betrachtung im Raster-elektronenmikroskop zugeführt.

Die Thyreoidektomie wurde unter der üblichen Narkose bei gewohnter Lagerung der Tiere in Rückenlage durchgeführt. Da die Schilddrüse beim Schwein ähnlich wie beim Menschen infolge des kurzen Halses dem Brusteingang benachbart ist [36], wurden die Tiere vorsichtshalber intubiert. Nach Anlegen eines T-Schnittes in der caudalen Hälfte des Halses, und zwar in der ventralen Halsmitte von kranial nach kaudal bis in den Bereich der Fossa jugularis und von dort knapp supraklavikular nach rechts und links lateral, wurden links und rechts die A. carotis communis bzw. rechts der sogenannte Truncus thyrocervicalis [120] aufgesucht. Nun wurden die Aa. thyreoidales caudales, die beim Schwein die Hauptversorgung der Schilddrüse übernehmen [120], dargestellt und unterbunden. In gleicher Weise wurde mit den Aa. thyreoidales craniales verfahren. Unter möglichster Schonung des Thymus wurde nun alles erreichbare Schilddrüsengewebe entfernt. Dabei war mit größtmöglicher Gründlichkeit vorzugehen, nachdem beim Schwein sehr regelmäßig akzessorische Schilddrüsen vorkommen, die aber in den meisten Fällen schilddrüsennah liegen sollen [120], so daß bei weitgehender Entfernung zum Teil auch des

die Schilddrüse umgebenden Gewebes meistens wirklich das gesamte Schilddrüsengewebe erfaßt wird. Nach sorgfältiger Blutstillung wurde die Operationswunde primär verschlossen. Bei Bedarf erhielten die Tiere während der Operation Plasmaexpander¹⁾. Die Tiere überstanden die Strapazen dieser Operation den Umständen entsprechend zunächst gut. Bei den ersten beiden Tieren zeigten sich aber schon bald nach der Operation die Zeichen einer schweren Infektion, und beide starben schließlich auch am 47. (Schwein Nr.104) beziehungsweise am 32. (Schwein Nr.109) postoperativen Tag an den Folgen einer Sepsis.

3. Ergebnisse

3.1. Schilddrüsenparameter

Eine Übersicht über die gemessenen Schilddrüsenparameter gibt Tabelle 5:

Tier	T ₄ (CPB-A)		T ₃ -Test, sog. freies T ₃ - ¹²⁵ J		Index des freien Schilddrüsenhormons	
	(in µg%)		(in %)			
	präop.	postop.	präop.	postop.	präop.	postop.
104	2,3	Ø	69,9	60,8	1,61	Ø
	3,3	0,3	64,2	67,9	2,12	0,20
		Ø		65,6		Ø
109	6,2	Ø	77,6	68,2	4,81	Ø
114	-	1,1	-	45,3	-	0,50

1) Rheomacrodex^(R) (Fa. Knoll, Ludwigshafen)

Wie aus dieser Aufstellung zu ersehen ist, können die Tiere Nr. 104 und 109 als postoperativ athyreot bezeichnet werden, während dem dritten Schwein eine Hypothyreose guten Gewissens zugeschrieben werden kann, obwohl auf den präoperativen Vergleichswert verzichtet werden mußte. Aufgrund der Tatsache, daß die untere Nachweisgrenze des 'competitive protein binding assay' für T_4 etwa bei 0,4 µg% liegt, ist der zweite postoperative Wert von Tier Nr.104 (0,3 µg%) als möglicher Hormonnachweis zu vernachlässigen.

3.2. Cholesterin (s. Abb.8)

Bei allen drei Tieren war zunächst ein Anstieg des Serumcholesterins zu verzeichnen, und zwar von durchschnittlich 95,43 mg% vor der Thyreoidektomie auf durchschnittlich 135 mg% eine Woche nach der Schilddrüsenexstirpation. Bald darauf fiel der Blutgehalt an Cholesterin bei den Tieren Nr. 104 und 109 wieder ab und unterschritt bei dem ersten den Ausgangswert vor Schilddrüsenoperation nach drei Wochen, so daß der Serumcholesterinspiegel in der vierten Woche nach Thyreoidektomie mit 50 mg% nur die Hälfte des präoperativen Wertes betrug. Bei Tier 109 lag der Cholesteringehalt des Blutes mit 90 mg% schon am elften Tag nach der Operation unter den präoperativen Werten von 100 bzw. 120 mg%. Beim dritten Schwein ist im Vergleich zu den präoperativen Verhältnissen (58 bzw. 80 mg%) das Serumcholesterin fast während der ganzen postoperativen Beobachtungsperiode auf einem etwas höheren Niveau geblieben. Bei diesem Tier war der höchste Wert (120 mg%) erst in der sechsten Woche erreicht, wonach es innerhalb der darauffolgenden vierzehn Tage zu einem Abfall des Blutcholesterins auf 75 mg% kam. Anschließend entwickelte sich der Cholesterinspiegel des Blutes bis zum 156.Tag wieder in etwas höhere Bereiche auf am Ende 120 mg%.

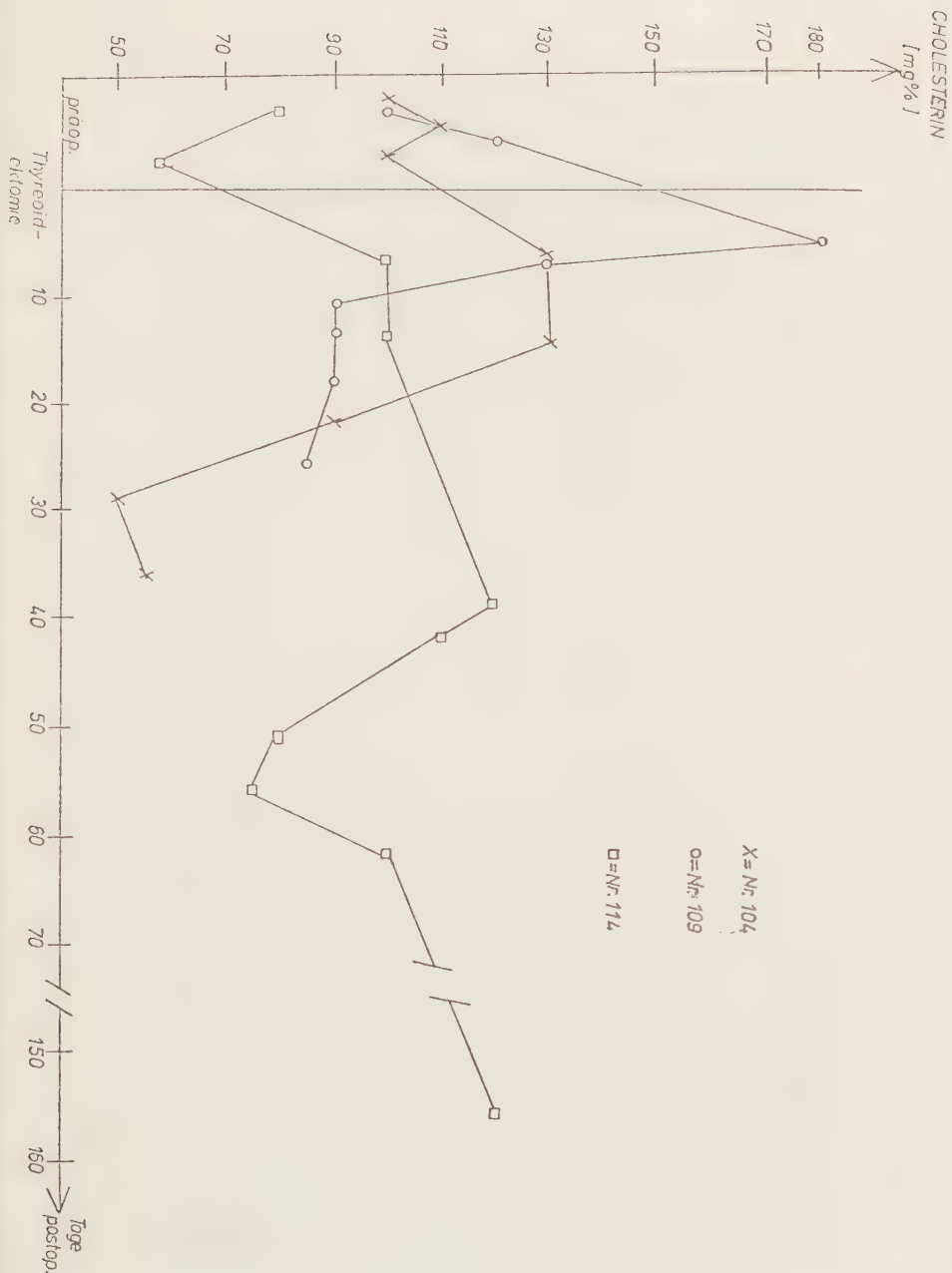


Abb. 8 : Zeitverlauf des Blutcholesteringehaltes bei drei Miniaturschweinen vor und nach totaler Thyreoidektomie

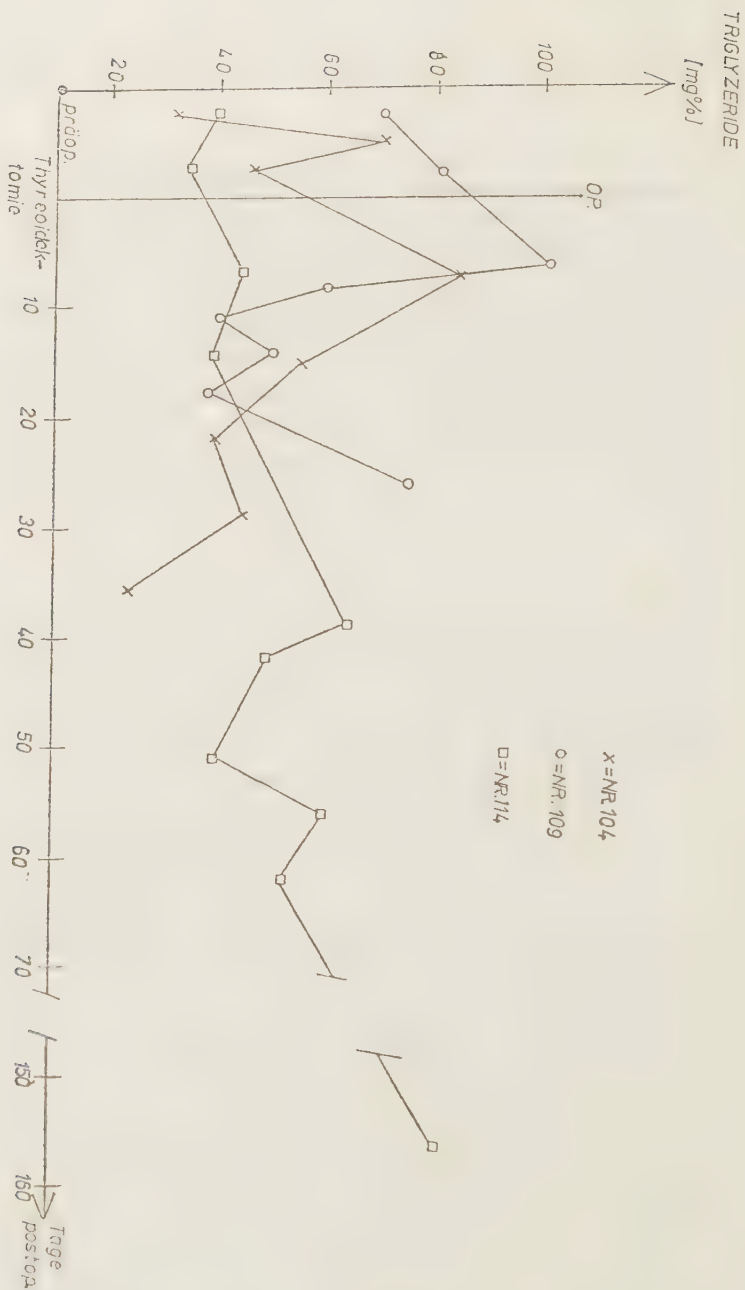


Abb. 9 : Zeitlicher Verlauf der Serumtriglyceride bei drei Miniatureschweinen vor und nach totaler Thyreoidektomie

3.3. Triglyzeride (s. Abb.9)

Der zeitliche Verlauf des Triglyzeridspiegels war dem des Serumcholesterins nicht unähnlich. In der ersten Woche nach der Thyreoidektomie stiegen die Triglyzeride von durchschnittlich 53,86 mg% auf durchschnittlich 72,75 mg%. An dieser Reaktion war Tier Nr.114 nicht beteiligt, weil bei ihm erst in der sechsten Woche nach der Schilddrüsenoperation ein geringer Anstieg von durchschnittlich 40 mg% auf 65 mg% zu verzeichnen war. Auffällig ist bei allen drei Tieren, daß der Graph der zeitlichen Entwicklung der Triglyzeride demjenigen des Serumcholesterins stark ähnelt.

3.4: Morphologie

Bei der Untersuchung der Arterien nach Thyreoidektomie waren mit Ausnahme von zwei Gefäßen eines Operations-termins bei Tier 114 auf den beurteilbaren Innenflächen aller anderen untersuchten Gefäße immer wieder vereinzelte adhärente Thrombozyten in verschiedenen Stadien der Ausbreitung nachzuweisen.

Das klassische Bild eines Thrombozyten in einem eher späten Stadium der viskösen Metamorphose zeigt die Abbildung 10 in 5000-facher Vergrößerung (Tier Nr.109, A. femoralis rechts). Das vorliegende Gefäß wurde am 14. Tag nach der Thyreoidektomie bei einem aktuellen Blutcholesterinspiegel von 90 mg% entnommen, acht Tage nachdem eine Hypercholesterinämie von 180 mg% festgestellt worden war. Der schon etwas abgeflachte, ca. 2 μ im Durchmesser große Zellkörper jener sternförmiger Figur, auf dem Bild etwa bei 6 Uhr zu sehen, hat über mehrere deutlich ausgebildete Pseudopodien Kontakt mit einem augenscheinlich unbeschädigten, d.h. geschlossenen Endothel. Die circa bei 3 Uhr sichtbare Eintiefung mit aufgeworfenem Randwall dürfte wohl einem Artefakt zuzuordnen sein. Nimmt man den Längsfaltenverlauf der Gefäßinnenfläche

als Orientierung für die Fließrichtung des Blutes, so erscheint bemerkenswert, daß die von dem beschriebenen Thrombozyten waagrecht nach links verlaufende Pseudopodie quer zur Strömungsrichtung des Blutes ausgerichtet ist. Eigentlich wäre eher eine Ausrichtung parallel zur Blutströmung zu erwarten. Diese Ausbildung von entsprechend ausgeprägten Pseudopodien quer zur Strömungsrichtung sollte durch lokale Besonderheiten der Scherkräfte an dieser Stelle erklärbar sein.

Bei Durchmusterung desselben Gefäßes überraschte der Befund, den als Beispiel die Abbildung 11 in 5000-facher Vergrößerung dokumentiert. Es sind einige scharfkantige, deutlich aus der Endotheloberfläche herausragende Gebilde erkennbar, die durch eine fast gesetzmäßig ausgebildete Längsriffelung und ihre scharfen Außenkonturen den Eindruck eines regelhaft zusammengesetzten Körpers hervorrufen. Es erscheint auf Grund dieses äußeren Aspektes berechtigt, von einer kristallinen Struktur zu sprechen. Derartig gestaltete Wandveränderungen können als Cholesterinkristalle angesehen werden [29, 48]. Der abgebildete Abschnitt der Gefäßinnenfläche induziert die Vorstellung, als ob die Kristalle gleichsam in einem Meer von Fibrinfasern untertauchen würden. Die umschriebene, etwas bauchig erscheinende und gut gegen die Umgebung abgrenzbare Struktur, die unmittelbar unterhalb der Kristalle zu erkennen ist, entspricht möglicherweise einem im Fibrinverband verstrickten Thrombozyten. Daß insgesamt nicht mehr Blutplättchen im vorliegenden Fasernetz abzugrenzen sind, spricht dafür, daß bereits ein späterer Zeitpunkt des Inkorporationsvorganges eines Fremdkörpers erfaßt wurde.

Die klassischen Erscheinungsbilder von endotheladhärenten Thrombozyten verdeutlicht die Abb.12, die einen Ausschnitt aus der linken Arteria carotis von Tier 114 in 5000-facher Vergrößerung darbietet. Der aktuelle Blutcholesteringehalt bei diesem Tier zum Zeitpunkt der Ge-



Abb.10: Rechte A.femoralis (Tier Nr.109) in 5000-facher Vergrößerung: Thrombozyt in einem späten Stadium der Ausbreitung (visköse Metamorphose)



Abb.11: Rechte A.femoralis (Tier Nr.109) in 5000-facher Vergrößerung: möglicherweise Cholesterinkristalle umgeben von Fibrinfasern. Unterhalb der Kristalle ca. bei 6 Uhr ist ein Thrombozyt abzugrenzen.



Abb.12: Linke A.carotis (Tier Nr.114) in 5000-facher Vergrößerung: zwei einzelne Thrombozyten in einem früheren Stadium der Ausbreitung und ein kleines endotheladhärentes Thrombozytenaggregat.



Abb.13: Linke A.carotis (Tier Nr.114) in 10.000-facher Vergrößerung: zwei adhärenente Thrombozyten, davon der untere in einem etwas späteren Stadium der Ausbreitung.

fäßentnahme betrug 120 mg%. Bei ungefähr 6 Uhr sind zwei Thrombozyten in einer mittleren Phase der viskösen Metamorphose zu sehen, die einen typischen Pseudopodienkontakt mit einem offensichtlich intakten Endothel aufgenommen haben. Im Bereich der rechten oberen Ecke der Abbildung stellt sich eine etwas größere Auflagerung in einer Längenausdehnung von ca. 6 μ und einer Breite von etwa 2 μ dar, die einem adhärennten kleinen Blutplättchenaggregat entsprechen könnte.

Zwei sich mit ihren Pseudopodien teilweise berührende Thrombozyten, die auf einem intakten, glatten Endothel adhärieren, in 10.000-facher Vergrößerung zeigt die Abbildung 13, die von demselben Gefäß aufgenommen ist. Der untere Thrombozyt scheint in einer etwas späteren Phase der viskösen Metamorphose zu sein als der über ihm gelegene, nachdem der Zellkörper bereits sichtlich flacher und abgerundeter erscheint. Auch die Pseudopodien erwecken bei diesem Blutplättchen den Eindruck, als ob sie weichere Konturen besäßen und fließender im Endothel verliefen als diejenigen des oberhalb dargestellten Thrombozyten.

Zusammenfassend ist also festzustellen, daß es bei allen drei thyreoidektomierten Tieren zum vereinzelt Anhaften von Thrombozyten am intakten Arterienendothel gekommen ist. Ein typischer Thrombozytenrasen, wie er von den Versuchen mit Cholesterintrockenfutter her bekannt ist [46 - 50], konnte jedoch bei keinem der drei Tiere nachgewiesen werden.

4. Diskussion

Wie die gemessenen Schilddrüsenparameter zeigen, waren nach der Thyreoidektomie zwei Tiere athyreot und eines hypothyreot. Offensichtlich gelang es bei Tier Nr. 114 nicht ganz, das gesamte Schilddrüsenparenchym zu ex-

stirpieren, sei es daß von der eigentlichen Drüse noch ein Rest im Schwein zurückblieb, sei es daß eine akzessorische Schilddrüse nicht mit erfaßt wurde. Mit Sicherheit aber waren bei allen drei Tieren vom Schilddrüsenstoffwechsel her die Voraussetzungen für eine einschneidende Beeinflussung des Lipidmetabolismus durch Schilddrüsenhormonmangel gegeben. In der Tat stellte sich auch bei allen drei Tieren nach der Exstirpation der Schilddrüse ein im Vergleich zum präoperativen Wert erhöhter Cholesterinspiegel im Blut ein. Als überraschend ist zu werten, daß der Blutcholesterinspiegel bei zwei Tieren (Nr. 104 und 109) sehr schnell wieder absank. Dabei ist festzuhalten, daß diese beiden Tiere erkrankten und aus diesem Grunde im weiteren Verlauf weniger Futter zu sich nahmen, wie sich das anhand des Körpergewichts bestätigt, das bei Nr. 104 mit 15 kg gleich blieb und bei Nr. 109 sogar von 39,5 kg auf 37,1 kg abnahm. Dies ist möglicherweise von Bedeutung, nachdem gezeigt wurde, daß die nach Thyreoidektomie bei Ratten auftretende Hypercholesterinämie durch Mangeler ernährung vermindert werden kann [23]. Bei dem dritten Tier fällt der Einbruch des Cholesterinspiegels nach dem 39.Tag auf, der von 120 mg% bis auf 75 mg% am 56.Tag stattfand. Im Laufe der folgenden Messungen wurden bis zum 156.Tag wiederum 120 mg% im Blut erreicht. Beachtet man die Tatsache, daß dieses Tier bei der Leerwertbestimmung schon einen spontanen Abfall von 80 mg% auf 58 mg% zeigte, was einer Minderung um 27,5% des Ausgangswertes entspricht, wird das Absinken des Cholesterinspiegels vom 39. bis zum 56. Tag um 37,5 % des Ausgangswertes relativiert. Dabei darf aber keinesfalls übersehen werden, daß diese Cholesterinspiegelbewegung vom 39. bis zum 56. Tag einen in drei Messungen bestätigten Trend darstellt. An unserer Klinik sind deutlich erniedrigte Cholesterinspiegel im Gefolge von Operationen immer wieder beobachtet worden [85]. Gegen eine entscheidende Rolle dieses Phänomens bei den hier berichte-

ten Bewegungen des Cholesterinspiegels spricht die Tatsache, daß erstens eine strenge zeitliche Koinzidenz mit einer Operation nicht in allen Fällen verifiziert werden konnte und zweitens nicht nur eine kurzfristige Abwärtstendenz, sondern bis zu 17 Tage dauernde Veränderungen vorgelegen haben. Es liegt auf der Hand, daß länger dauernde Cholesterinschwankungen nicht allein durch die Gegebenheiten in Zusammenhang mit einer Operation wie etwa Nüchternperiode, Narkose und Blutverlust zu erklären sind. Aus den vorhandenen Befunden läßt sich gerade auch angesichts der geringen Individuenzahl eine Erläuterung der eben genannten Befunde, ohne auf wenig weiterführende Spekulationen zu verzichten, nicht ableiten. Um eine sinnvolle Aussage vertreten zu können, erscheinen weitere Versuche, die allerdings auf mehrere Monate hin ausgelegt sein müssen, von Wichtigkeit. Da diese Fragestellung aber nicht zum Thema der vorliegenden Arbeit gehört, wurde darauf verzichtet, den zeitlichen Bedingtheiten einer Hypercholesterinämie nach Thyreoidektomie weiter nachzugehen.

Die ersten Messungen der Blutlipide nach sechs oder sieben Tagen liegen in einem zur Thyreoidektomie relativ kurzen Abstand, wenn man eine Halbwertszeit von 2 - 3 Tagen für Trijodthyronin und 6 - 8 Tagen für Thyroxin [19] zugrunde legt. Es ist also davon auszugehen, daß zwar schon eine Hypothyreose vorgelegen haben dürfte, aber sicher noch Schilddrüsenhormon in der Peripherie zur Verfügung stand. Somit ist es um so erstaunlicher, daß gerade eine Woche nach der Schilddrüsenexstirpation die höchsten Cholesterinwerte bei unseren Tieren zu beobachten waren. Auf diese Weise offenbart sich eine kleine Parallele zur Entwicklung des Cholesteringehaltes im Blut nach Cholesterinfütterung, wobei ebenfalls die entsprechend höchsten Werte unmittelbar nach Beginn der Fütterung in der ersten Woche zu beobachten sind. Der entscheidende Unterschied aller-

dings liegt hierbei in dem Umstand, daß das Absinken des Blutcholesteringehaltes bei den cholesteringefütterten Tieren nicht abrupt, sondern im Sinne einer kontinuierlichen Entwicklung vor sich geht. Das Schwein scheint in der Lage zu sein, sich, was den Lipidstoffwechsel anbelangt, an veränderte Verhältnisse wesentlich flexibler anpassen zu können als der Mensch. Beim Schwein ist die Cholesterinsynthese ebenso wie der Abbau im Gegensatz zum Menschen weitgehend auf die Leber beschränkt [63]. Deshalb ist es nicht unwahrscheinlich, daß im Verein mit der Lipoproteinsynthese eine Drosselung der Cholesterinsynthese unter dem Einfluß vermehrten Substrates zustande kommt, weil die Stoffwechselprozesse in der Leber erfahrungsgemäß sensibler auf regulative Einwirkungen reagieren, die durch das Wechselspiel zwischen Substratangebot und Endproduktstau zustande kommen [103]. Was die Ausscheidung des Cholesterins betrifft, so dürfte wohl die Gallensäuresekretion entsprechend dem Normalfutter, das aufgrund seiner Zusammensetzung nicht allzu choleretisch wirken sollte [103], verhältnismäßig gering sein. Dies bedeutet, daß auf diesem Weg der Cholesterinstoffwechsel beim Miniaturschwein, solange es mit Normalfutter versorgt wird, nur in einem vergleichsweise engen Rahmen beeinflußt werden kann, z.B. über eine Konzentrationserhöhung des Cholesterins in der Galle. Damit liegt also wahrscheinlich der Schwerpunkt auf dem Abbau des Cholesterins im Stoffwechsel, wenn es um die Eliminierung von endogen angehäuften Cholesterin aus dem Körper geht.

Die überproportional geminderte Abbaurate und Ausscheidung zusammen sollen bekanntlich verantwortlich sein für die trotz herabgesetzter Synthese positive Cholesterinbilanz, die durch eine Erhöhung des Cholesteringehaltes im Blut gekennzeichnet ist [33]. Es ist also davon auszugehen, daß die Synthese weniger schilddrüsenhormonabhängig ist als der Abbau des Cholesterins. Für

die zunächst unmittelbar nach Thyroidektomie auftretende Steigerung des Cholesteringehaltes im Blut könnte eine Ursache darin zu sehen sein, daß unter Schilddrüsenhormonmangel der Cholesterinabbau prompt gedrosselt wird, während aufgrund einer geringeren Hormonabhängigkeit die Cholesterinsynthese nicht mit der gleichen Geschwindigkeit auf den entstandenen Schilddrüsenhormonmangel reagiert. Eine aus den vorliegenden Versuchen heraus guten Gewissens vertretbare Deutung muß letztlich jedoch unterbleiben. Für eingehende Betrachtungen in dieser Richtung müßte zum Beispiel auch das Verhalten der Plasmalipoproteine untersucht werden. Es ist nämlich nicht zu übersehen, daß alle Bedingungen, die mit einer verminderten Syntheserate bei erhöhtem Blutgehalt an Cholesterin einhergehen, durch eine Verminderung im Nettoumsatz der Plasmalipoproteine gekennzeichnet sein sollten [124]. Auch die für diese Fragestellung wichtige Ausscheidung des Cholesterins über die Galle steht in Relation zum Stoffwechsel der Plasmalipoproteine [124]. Da die Problemstellung der vorliegenden Untersuchung mit einer genauen Analyse des Lipidstoffwechsels unter den erzeugten experimentellen Bedingungen nicht vereinbar ist, wurde die Untersuchung des Plasmalipoproteinverhaltens und weiterer Lipidumsatzindikatoren nicht in Angriff genommen. Eine eingehendere Erläuterung der Problematik aus der Sicht der beschriebenen Versuche ist nicht zu vertreten, so daß auf derartige Einlassungen verzichtet werden soll.

Daß Cholesterin unter hypo- bzw. athyreoten Bedingungen vermehrt im Plasma aufgetreten war, dokumentieren wohl auch die Ablagerungen von Cholesterinkristallen in der Gefäßwand, die bei einigen Gefäßen nachzuweisen waren. Daß es sich bei diesen Strukturen mit größter Wahrscheinlichkeit um Kristalle des Cholesterins handeln dürfte, ist wiederholt festgestellt worden [29, 48]. Derartige Veränderungen sind auch einige Tage nach

der Messung deutlich erhöhten Plasmacholesterins nachzuweisen. Dies nimmt nicht wunder, nachdem es sich bei der sogenannten Inkorporation von Cholesterin und anderen Lipiden in die Gefäßwand um einen Prozeß handeln dürfte, der in der Größenordnung von Tagen bis zu Wochen abläuft. Zudem ist zu beachten, daß die den gesamten Organismus betreffende Minderung der Stoffwechselaktivitäten unter Schilddrüsenhormonmangel die Ablagerung des vermehrt anfallenden Cholesterins in der Gefäßwand fördern könnte.

Angesichts der soeben angesprochenen Veränderungen und der stattgehabten Cholesterinspiegelerhöhung, auch wenn sie nicht von Dauer war, erscheint es nicht verwunderlich, daß Thrombozyten, die am Endothel adhären waren, bei den meisten nach Thyreoidektomie untersuchten Arterien nachgewiesen werden konnten. Allerdings gelangte ein dichter Thrombozytenrasen, wie er bei dauerhafter Cholesterinspiegelerhöhung z.B. nach Cholesterinfütterung regelmäßig auftritt [46, 47, 48, 29], bei keinem der untersuchten Gefäße zu Darstellung. Diese geringe Intensität der Abscheidungen spricht dafür, daß die in der Literaturübersicht genannte Erhöhung des Arterioskleroserisikos bei Hypothyreose doch wohl über den erhöhten Cholesterinspiegel vermittelt werden dürfte. Vorbehaltlich der geringen Individuenzahl in den vorliegenden Versuchen besteht kein Anlaß, hypo- bzw. athyreote Stoffwechsellage im Sinne einer "potentiellen Arteriopathie" nach HESS [48, 51] zu interpretieren. Es kann nämlich nicht davon die Rede sein, daß die beobachteten vereinzelt Thrombozytenadhäsionen in so großer Zahl aufgetreten wären, um das Vorliegen eines weiteren Risikofaktors neben dem erhöhten Blutcholesteringehalt wahrscheinlich zu machen. Das Stadium der potentiellen Arteriopathie aber wird aufgefaßt als "durch das Vorhandensein und Wirken von Risikofaktoren gekennzeichnet, die den Thrombozyten in seine Reizform überführen können"

[48]. In diesem Sinne scheint auch eine Eignung der Thyreoidektomie von Miniaturschweinen zum Studium anti-adhäsiver Wirkungen von Pharmaka nicht vorzuliegen. In diesem Modell wird offensichtlich eine zu wenig regelmäßige und zu gering ausgeprägte Steigerung der Thrombozytenadhäsivität erzielt, als daß sie für die angesprochene Fragestellung von Nutzen sein könnte.

IV. ERSTE VERSUCHE MIT EINEM IN-VIVO-MODELL ZUM STUDIUM VON INHIBITOREN DER THROMBOZYTENADHÄSION AN INTAKTEM ENDOTHEL

1. Literaturübersicht

Seitdem die Idee, die medikamentöse Beeinflussung der Thrombozytenfunktion als antithrombotisches Therapieprinzip einzusetzen, zum ersten Mal geäußert wurde [95], hat sich eine Vielzahl von Autoren mit dieser Möglichkeit sowohl im Tierversuch als auch klinisch auseinandergesetzt [Zusammenfassung z.B. 10, 72, 40]. Jedoch ist bei klinischen Studien mit der Einwirkung verschiedener möglicher Risiko- und Beeinflussungsfaktoren sowohl auf die Häufigkeit von thrombotischen oder thromboembolischen Prozessen als auch auf die Wirksamkeit der zu untersuchenden Substanz zu rechnen. Überschaubarer, aber mit der Gefahr unzulässiger Verfälschung und Vereinfachung verbunden, ist die Isolierung der zu untersuchenden Funktion vom Gesamtorganismus und damit die Überprüfung in einem in-vitro-Versuch.

Sowohl für die Aggregationsfähigkeit [12] als auch für die Adhäsivität [5] von Thrombozyten wurden brauchbare in-vitro-Tests entwickelt, die kombiniert mit klinisch-statistischen Methoden schon sehr gute und bedeutende Ergebnisse erbracht haben [z.B. 10, 12, 40, 62, 72, 74, 96, 139]. Alle diese Studien verwenden klinisch-statistische Methoden, die zwar signifikante Aussagen über die Gesamtwirksamkeit eines thrombozytotropen Pharmakons zulassen, aber auf den Anteil bestimmter Blutplättchenteilfunktionen z.B. der Adhäsion am Gesamteffekt keine Rückschlüsse erlauben.

Aus diesem Grund erscheint es berechtigt, ein zur Erzeugung primärer Thrombozytenadhäsionen vorzüglich ge-

eignetes Tiermodell [46, 47, 48, 29] als in-vivo-Test zur Überprüfung antiadhäsiver Eigenschaften eines Pharmakons zu installieren.

Nachdem es mit Regelmäßigkeit gelingt, durch lokalen Eis-, Adrenalin- bzw. Stromreiz oder durch Cholesterinkost Thrombozytenadhäsionen an der Innenfläche von Arterien von Versuchstieren zu bewirken, lag es nahe, die gleiche Versuchsanordnung als Modell zum in-vivo-Nachweis thrombozytenadhäsionshemmender Wirkung von Arzneimitteln einzusetzen. Der Vorteil dieser Versuchsanordnungen liegt darin, daß eine Beurteilung der Wechselbeziehung zwischen Blutplättchen und Gefäßwand unter Bedingungen möglich ist, die denen im Verlauf einer obliterierenden Arteriopathie sehr ähnlich sind [29, 46, 47, 48].

Derzeit befinden wir uns nach einer langen Erprobungszeit der Antikoagulantien (seit 1936) und einer beachtlichen Zeitspanne der Erfahrungen mit Thrombolytika (seit 1957) in einer Phase der Entwicklung und klinisch-praktischen Testung von "thrombozytotropen Pharmaka, insbesondere der Antithrombotika vom Typ der Antaggregantien beziehungsweise Thrombopathifikantien" [89]. Von den bisher untersuchten und klinisch brauchbaren Substanzen kommt der Acetylsalicylsäure in vivo die größte Wirkungsstärke zu [89].

Bei der systematischen Suche nach dem zugrunde liegenden Mechanismus wurden mehrere Wirkungen der Acetylsalicylsäure auf die Blutplättchen nachgewiesen [109]. So werden die ADP-, Adrenalin- und Kollagen-induzierte Freisetzungreaktion sowie die Kollagen-, ADP- und Thrombin-induzierte Aggregation gehemmt. Die Acetylsalicylsäure mindert die bei bestimmten Gefäßkrankheiten spontan gesteigerte Aggregationsneigung der Thrombozyten in vitro und in vivo, ebenso die Adhäsivität [139]. Die Thrombozytenüberlebenszeit nimmt unter Acetylsalicylsäure zu, und entsprechend sinkt der Thrombozytenumsatz ab [24]. Sicher bleibt der Thrombozytenstoffwechsel unter

Acetylsalicylsäure nicht unbeeinflusst, was bis jetzt anhand der gehemmten Hexokinasereaktion in den Plättchen [116] und der deutlich herabgesetzten Glucoseaufnahme in die Thrombozyten [20] verdeutlicht werden konnte.

Vom Wirkungsmechanismus her ist der Einfluß der Acetylsalicylsäure auf die Blutplättchenfunktion noch nicht schlüssig geklärt. Ein direktes Angreifen am Thrombozyten selbst wird zum einen in der Störung des Thrombozytenstoffwechsels [96], zum anderen in einer unmittelbaren Veränderung der Thrombozytenmembran [137] gesehen, weil Plättchen, die der Einwirkung von ^{14}C -markierter Acetylsalicylsäure ausgesetzt waren, das Isotop in Membran, Granula und "löslichen" Fraktionen zeigen [139]. Denkbar ist beispielsweise eine unspezifische Acetylierung von Membranproteinen und eine damit verbundene Rezeptorinaktivierung an der Thrombozytenmembran [58, 62]. Andere Auffassungen gehen von humoralen Veränderungen aus und sehen den entscheidenden Vorgang in der Hemmung eines für die Aggregation erforderlichen Plasmaproteins, weil nach Applikation von Acetylsalicylsäure eine ausgeprägte Acetylierung von Plasmaproteinen, insbesondere Albuminen und Enzymen, nachgewiesen werden konnte [14, 100].

Unabhängig davon, wie der eigentliche Mechanismus nun wirklich abläuft, darf mit einiger Sicherheit gesagt werden, daß Acetylierungsvorgänge bisher noch unbekannter Natur bei der Aggregationshemmung eine Rolle spielen können [139]. Eine Zusammenfassung der möglichen Wirkungsweise von Acetylsalicylsäure als Antaggregans [109] lautet folgendermaßen: "1. In vitro könnte die Acetylgruppe der ASS an oder in die Thrombozyten gebracht werden. Die aggregationshemmende Wirkung könnte auf der Hemmung der Hexokinasereaktion und der Störung des Glucosestoffwechsels beruhen. Auch eine Acetylierung von Proteinen in der Plättchenmembran wäre

zu diskutieren. 2. In vivo ist in der Umsetzungsreaktion der ASS mit Plasmaeiweißkomponenten die Ursache für die aggregationshemmende Wirkung der ASS zu suchen. Wir halten es für wahrscheinlich, daß ASS in vivo einen Soforteffekt auf die Plättchenmembran hat, der eine geringe Aggregationshemmung bewirkt. Der lang anhaltende Effekt kommt durch eine Acetylierung von Plasmaproteinen zustande." [109].

Im Rahmen unserer Überlegungen, daß die Adhäsion der Thrombozyten an der intakten ebenso wie an der läderten Gefäßwand einen Schlüsselvorgang in der Pathogenese obliterierender Arteriopathien darstellen könnte, konzentriert sich das Augenmerk insbesondere darauf, ob der Acetylsalicylsäure in gleichem Maße auch eine antiadhäsive Wirkung zukommt. Definitionsgemäß unterscheidet sich Adhäsion von Aggregation durch die Oberfläche, an der die Thrombozyten anhaften [119]. Unter Aggregation wird das Haften der Thrombozyten untereinander, unter Adhäsion das Anhaften von Thrombozyten an unterschiedlichen Oberflächen verstanden. Zwar sind beide Phänomene sehr ähnlicher, jedoch nicht identischer Natur [119]. Bei Ratten konnte gezeigt werden, daß die Verabreichung von Natriumsalicylat die Plättchenadhärenz auf Glas deutlich beeinträchtigt [8]. Kaninchen, bei denen ein extrakorporaler Shunt angelegt wurde, dessen innere Oberfläche mit einem in vitro thrombozytenadhärierenden Gammaglobulin überzogen war, zeigten signifikant weniger Ablagerungen auf der Globulinfläche, wenn sie 200 mg / kg Acetylsalicylsäure intravenös erhalten hatten, als Kontrolltiere ohne Acetylsalicylsäure [24]. Auch für den Menschen wurde beim Studium der Nebenwirkungen des Aspirin eine Minderung der "Klebrigkeit" von Thrombozyten aufgezeigt [31]. Bei 10 Personen, die 300 mg Aspirin pro Tag oral zu sich nahmen, zeigte sich eine Woche nach Einnahmebeginn ein signifikanter Abfall der Adhäsivität von Blutplättchen auf Glasperlen, ver-

glichen mit der Haftungsneigung vor Aspirinapplikation und eine Woche nach Beendigung der täglichen Zufuhr von Acetylsalicylsäure [127]. Bei abgelaufenem Myokardinfarkt ist die Thrombozytenadhäsivität anfänglich eher niedrig. Unter zweimal 1 g Aspirin täglich blieb die Adhäsivität gleich niedrig, während sie bei einer Kontrollgruppe bis zum sechsten Tag stetig anstieg [138].

Aus diesen Befunden können keine tiefgreifenden Rückschlüsse auf das Verhalten der Thrombozyten am intakten Endothel unter normalen Strömungsbedingungen in vivo gezogen werden, da die Adhäsivitätsmessung mithilfe verschiedener in-vitro-Tests sicher mit einer größeren Fehlerquote behaftet ist als z.B. die Aggregationsmessung. Bei dieser bleibt ja im Gegensatz zur Adhäsivitätsmessung die biologische Oberfläche, nämlich der andere Thrombozyt, erhalten.

Um Auswirkungen eines Pharmakons auf die Wechselbeziehung zwischen Thrombozyt und Endothel studieren zu können, erscheint es wünschenswert, eine Momentaufnahme dieser Beziehung zu erhalten, wie sie sich unter den Bedingungen des Lebens entwickelt. Diese Möglichkeit eröffnet das in unserer Klinik bewährte Modell des Adhäsionsnachweises mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops. Diese Versuchsanordnung gestattet es, wie vorgehend schon ausgeführt wurde, die Thrombozytenadhäsion an der physiologischen Oberfläche Endothel so, wie sie in vivo zustande kam, zu konservieren und erkennbar werden zu lassen.

2. Material und Methodik

Die Untersuchungen wurden an drei Hanford-Miniaturschweinen durchgeführt, davon zwei männlichen Geschlechts. Die Tiere wogen am Tag der ersten Operation 79 kg (Nr.84), 49 kg (Nr.92) und 53 kg (Nr.97) entsprechend ihrem Alter

von 10, 5 und 7 Monaten. Sie wurden gehalten, wie schon beschrieben, und mit einem Vorhofkatheter versehen.

Das Cholesterinfutter wurde in Portionen zu 1 kg zubereitet, und zwar wurden jeweils 950 g Trockenfutter mit 50 g reinem Cholesterin gut und gründlich durchmischt, so daß ein mit fünf Gewichtsprozent Cholesterin angereichertes Trockenfutter resultierte.

Die Tiere bekamen die Acetylsalicylsäure in einer Dosierung von täglich 1,5 g verabreicht. Das entspricht drei Tabletten Colfarit^(R) (Bayer AG), die so unter das Futter gemischt wurden, daß sie den Tieren nicht auffallen und damit von diesen nicht ausgesondert werden konnten. Tier Nr.97 erbrach an den ersten beiden Tagen der Colfaritfütterung mehrere kleine Portionen mit Futterbrei vermischten Schleimes, gab aber dann ebenso wie die beiden anderen Tiere keinen weiteren Anhalt für eine Unverträglichkeit der mikroverkapselten Acetylsalicylsäure.

Tier Nr.84 mit 79 kg Körpergewicht am Anfang und 78 kg am Ende des Versuches fraß pro Tag durchschnittlich 1,5 kg Futter, was einer Cholesterinmenge von 75 g pro die entspricht. Zunächst erhielt es jedoch für vier Tage Normalfutter und Acetylsalicylsäure, wonach am 5. Tag das Normalfutter durch das Cholesterinfutter ersetzt wurde. Am 33. Tag wurde die rechte A. carotis in der üblichen Weise entnommen und fixiert. Nach weiteren 8 Tagen entfernten wir die A. carotis links und die linke A. femoralis sowie nach Herzentnahme die A. interventricularis. Das Tier hatte insgesamt für 41 Tage Cholesterinfutter erhalten und somit insgesamt 3075 g Cholesterin zu sich genommen. Am 4., 7., 15., 23., 29., 37. und 45. Tag wurde Blut zur Bestimmung des Serumcholesterin- und Serumtriglyzeridspiegels aus dem Vorhofkatheter in beschriebener Weise abgezogen.

Tier Nr.92, das im Laufe des Versuches sein Körpergewicht um 5 kg von 49 auf 54 kg steigerte, wurde ebenfalls nach vier Tagen Normalfutter und Colfarit ab dem

5.Tag mit Cholesterinfutter und Acetylsalicylsäure versorgt. Bei einem täglichen Futterverbrauch von durchschnittlich 1 kg wurden dem Tier in 26 Tagen 1300 g Cholesterin zugeführt. Am 16. und 30. Tag wurde je eine A. carotis entnommen, am 30.Tag zusätzlich die linke A. femoralis und die A. interventricularis. Serumcholesterin- und Serumtriglyzeridbestimmungen fanden am 1., 2., 11., 16., 24. und 30. Tag statt.

Tier Nr.97, das während des Versuches einen Gewichtszuwachs um 9,5 kg auf 62,5 kg verzeichnete, erhielt zunächst für 6 Tage Normalfutter und Colfarit, nachdem es an den beiden ersten Tagen erbrochen hatte. Ab dem 7.Tag wurde das Tier drei Wochen lang mit Cholesterinfutter und Colfarit gefüttert, was bei durchschnittlich 1 kg Futter pro die einer Gesamtmenge von 1050 g Cholesterin entspricht. Am 27.Tag wurde das Tier an der rechten A. carotis operiert. Nun wurde für 31 Tage Normalfutter ohne Acetylsalicylsäure verfüttert, wobei nach 11 Tagen die linke A. carotis freigelegt und entfernt wurde. Ab dem 60.Tag gaben wir dem Tier für 16 Tage nur Cholesterinfutter, bei täglich 1,5 kg Futter insgesamt 1200 g Cholesterin, und operierten es am 76.Tag an der rechten A. femoralis. Bestimmungen des Blutgehaltes an Cholesterin und Triglyzeriden wurden am 1., 6., 16., 23., 27., 38., 54., 59., 65., 69. und 76. Tag durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Cholesterin (s. Abb.14)

Bei allen drei Tieren war auf orale Zufuhr von Cholesterin ein Anstieg des Blutgehaltes an Cholesterin im Vergleich zu den Ausgangswerten zu verzeichnen. Diesen Sachverhalt erläutert die Abbildung 14. In das Diagramm

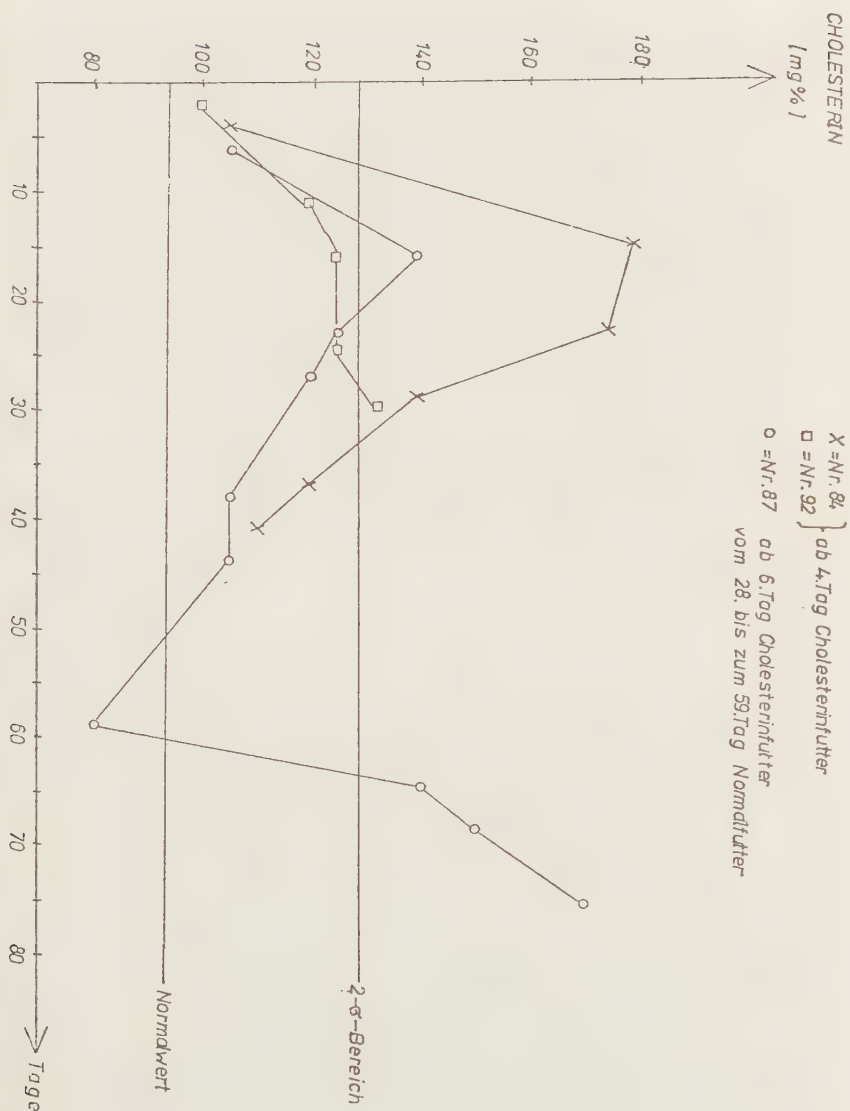


Abb. 14 : Verhalten des Serumcholesterinspiegels
vor und nach Cholesterinfütterung

sind der Normalwert und die zweifache Standardabweichung als Abszissenparallele eingetragen. Nach [80] ist der Normalwert mit 93,5 mg% und die Standardabweichung mit 17,71 mg% anzugeben. Infolgedessen ist der Bereich der doppelten Standardabweichung nach oben bei 128,9 mg% begrenzt, ein Wert, der von allen drei Tieren über kurz oder lang überschritten wurde. Die weitere zeitliche Entwicklung des Serumcholesterins nach vier durchgeführten Kostumstellungen bei drei Tieren zeigt in zwei Fällen steigende und in zwei Fällen sinkende Tendenz nach dem ersten Anstieg anschließend an den Beginn der Cholesterinzufuhr.

Bei Tier Nr.84 sank innerhalb der 41 Tage der Cholesterinfütterung der Blutgehalt an Cholesterin von 180 mg% elf Tage nach Fütterungsbeginn auf 110 mg% am 41.Tag der Cholesterinzufuhr und erreichte damit fast den Ausgangswert vor Cholesterinfütterung von 105 mg% (s. Abb.14).

Bei Tier Nr.97 fiel der Serumcholesterinspiegel von 140 mg% zehn Tage nach Beginn der Cholesteringabe auf 120 mg% am 21.Tag. Unter cholesterinfreiem Normalfutter kehrte der Serumcholesterinspiegel auf den Ausgangswert vor Cholesterinzufuhr, nämlich 105 mg%, zurück. Im Lauf der Versorgung mit dem üblichen Schweinemastfutter sank der Blutcholesteringehalt sogar auf 80 mg% ab. Auf die am Tag nach dieser Messung erneut begonnene Verabreichung eines cholesterinhaltigen Futters hin war ein Anstieg des Serumcholesterinspiegels auf 170 mg% nach sechzehn Tagen zu verzeichnen (s. Abb.14).

Eine ähnlich steigende Tendenz im Rahmen der Beobachtungszeit verzeichnete Tier Nr.92, nämlich von 100 mg% vor Cholesterinzufuhr auf 130 mg% nach 26 Tagen Cholesterinfütterung (s. Abb.14).

3.2. Triglyzeride

Wie aus Tab.6 ersichtlich, läßt sich aus dem Verhalten der Serumtriglyzeride keine Gesetzmäßigkeit ableiten, die einen direkten Zusammenhang der Triglyzeridveränderungen mit der Cholesterinfütterung herstellen könnte. Die intraindividuellen ebenso wie die interindividuellen Schwankungen sind zu groß, als daß bei dieser geringen Individuenzahl eine bestimmte Aussage begründet werden könnte.

Tier	Nr.84	Nr.92	Nr.97	
Triglyz. vor Chol.fütterung (in mg%)	48	89 82	68 59	65 75 41
Triglyz. nach Chol.fütterung (in mg%)	75 60 65 70 60	65 70 65 97	78 55 67	64 58 79

Tab.6: Serumtriglyzeridspiegel vor und nach Cholesterinfütterung in mg% bei drei Miniaturschweinen

3.3. Morphologie

Obwohl die Tiere unter einer Medikation von 1,5 g Acetylsalicylsäure täglich standen, wurden auf acht von zehn verwertbar untersuchten Gefäßen Thrombozytenadhäsionen gefunden. Allerdings konnte bei keiner der untersuchten Arterien ein Thrombozytenrasen der gleichen Ausprägung wie bei den Tieren, die mit einem 5%-igen Cholesterintrockenfutter ohne gleichzeitige Gabe von Acetylsalicylsäure gefüttert wurden, beobachtet werden.



Abb.15: Rechte A.carotis (Tier Nr.92) in 950-facher Vergrößerung: Endothelläsion umgeben von intaktem Endothel

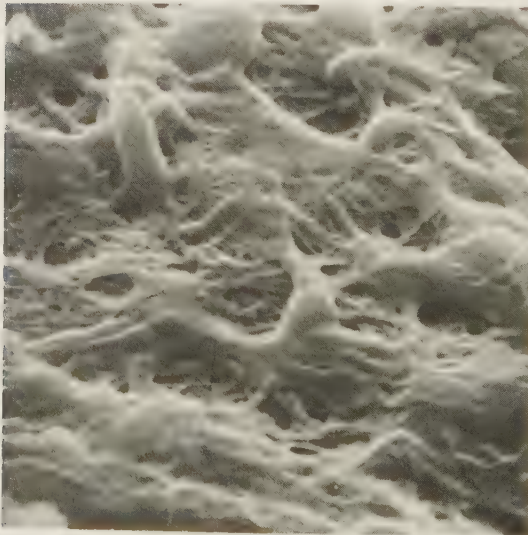


Abb.16: Rechte A.carotis (Tier Nr.92) in 9500-facher Vergrößerung: Ausschnitt aus dem Grund der Endothelläsion von Abb.15

Zum Vergleich für die im vorliegenden Versuch am intakten Endothel erhobenen Befunde sollen die Abbildungen 15 und 16 dienen, die den begonnenen Verschluß einer Endothelläsion eindrucksvoll dokumentieren. Die abgebildete Beobachtung stammt von der rechten A. carotis des Tieres Nr.92. Wie die Übersicht der betreffenden Endothelstelle (Abb.15, 950-fache Vergrößerung) zeigt, handelt es sich um eine Läsion, deren abgebildeter Umrissabschnitt einer Parabel gleicht. Am Rand der Läsion ist das leicht aufgeworfene Endothel zu erkennen, dessen Zellkerne im unmittelbar marginalen Bereich der Endothellücke gegenüber dem rechts oben und unten sichtbaren, unbeschädigten Endothel teilweise verkürzt erscheinen. Auf dem Grund der Läsion ist das deutliche, etwas schütterere Netz von Blutplättchen, deren Pseudopodien einander teilweise überkreuzen beziehungsweise miteinander verwoben sind, in augenfälligem Maße zu erkennen. Es soll an dieser Stelle insbesondere auch auf das außerhalb der Läsion befindliche Endothel verwiesen werden, das einerseits durch die im Abschliffen begriffenen Endothelzellen und andererseits durch das Fehlen jeglicher Auflagerungen von geformten Bestandteilen des Blutes charakterisiert ist. Vergrößert man einen Ausschnitt aus dem Bereich der Läsion auf das 9500-Fache (Abb.16), so offenbart sich ein klassisches Beispiel eines Mikroparietalthrombus, wie er unter dem Einfluß hämatogener Reize auf die Thrombozytenadhäsivität auch am unbeschädigten Endothel durchaus denkbar bzw. bei Hypercholesterinämie nachgewiesen [29, 48] ist. Es handelt sich um pseudopodienbestückte Blutplättchen, zwischen denen sich ein dicht verwobenes Fibrinfasernetz ausgebildet hat. Auf diese Weise ist der gesamte Boden der Läsion mit korpuskulären und nicht-korpuskulären Bestandteilen des Blutes ausgekleidet.

Ein Beispiel für die auf den anderen Gefäßen dieses Tieres gefundenen Thrombozytenadhäsionen am intakten

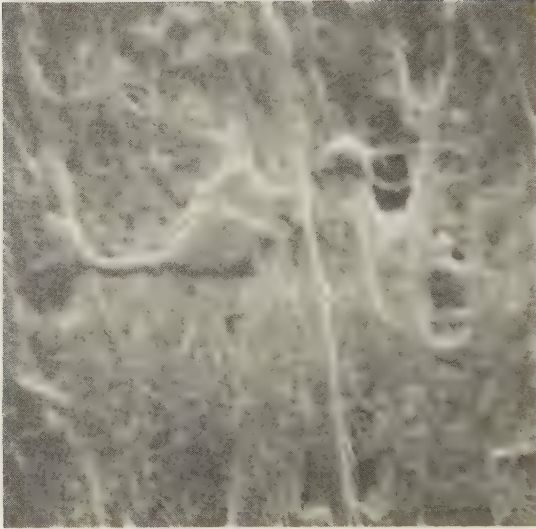


Abb.17: A.interventricularis (Tier Nr.92) in 9500-facher Vergrößerung: zwei Thrombozyten in fortgeschrittener Phase der Ausbreitung



Abb.18: Rechte A.carotis (Tier Nr.97) in 4250-facher Vergrößerung: zwei adhärenzte Thrombozyten unterhalb einer "abschilfernden" Endothelzelle, davon der obere in einer weit fortgeschrittenen Phase der Ausbreitung

Endothel zeigt die Abb.17 in 9500-facher Vergrößerung. Es handelt sich um die A. interventricularis von Tier Nr.92, die bei einem aktuellen Blutcholesteringehalt von 130 mg% nach 26 Tagen Fütterung mit Cholesterin und Acetylsalicylsäure in üblicher Weise entnommen und präpariert wurde. Etwa in Bildmitte stellen sich zwei Thrombozyten in einer schon etwas fortgeschrittenen Phase der Ausbreitung dar. Die Zellen selbst sind bereits deutlich abgeplattet und die Pseudopodien nur mehr teilweise deutlich von der Unterlage abgrenzbar. Das Endothel läßt in dieser Vergrößerung eine feine faserige Strukturierung erkennen, was wohl präparationsbedingt sein dürfte.

Bei Tier Nr.97 waren auf allen untersuchten Gefäßen, deren Befund verwertbar war, Thrombozytenadhäsionen nachzuweisen. Diese zeigten sich also ebenfalls auf der A. carotis rechts, die am 11.Tag nach Beendigung der Zufuhr von 5%igem Cholesterintrockenfutter und Acetylsalicylsäure entnommen worden war. Allerdings waren derartige Auflagerungen von Blutplättchen auf der Gefäßinnenwand, wie sie auf der Abbildung 18 in 4250-facher Vergrößerung dokumentiert sind, in so geringer Anzahl zu finden, daß die vorliegende Abbildung bezüglich dieses Gefäßes doch einen echten Ausnahmebefund darstellt. Dennoch soll sie an dieser Stelle aufgeführt werden, weil sie einen für die Adhäsion einzelner Thrombozyten und die nachfolgend einsetzende visköse Metamorphose besonders typischen Endothelbefund darbietet. Es sind im rechten unteren Viertel des Bildes zwei Thrombozyten zu sehen, von denen je einer ein früheres und ein späteres Stadium der Ausbreitung aufzeigt. Das eine eher in der Mitte des Bildes gelegene Blutplättchen ist bereits in das praktisch letzte Stadium der Ausbreitung eingetreten, wobei der Thrombozyt gleichsam spiegeleiartig in die Fläche zerfließt. Dabei resultiert eine mehrstrahlige Sternfigur mit einem

Zentrum, dessen Längsdurchmesser ca. $2,5\ \mu$ und Querdurchmesser ca. $1,5\ \mu$ betragen und dessen Oberfläche relativ glatt ist. Das andere ungefähr bei 4 Uhr sichtbare Blutplättchen zeigt den noch deutlich bauchigen Zellkörper mit uneinheitlicher, zerfurchter Oberfläche, dessen Pseudopodien nur zart ausgebildet in die Umgebung sprießen. Somit dürfte es sich also um ein etwas früheres Stadium der viskösen Metamorphose handeln.

Wie von den Cholesterinfütterungsversuchen her bekannt ist, sind nach länger dauernder Cholesterinfütterung aus der Gefäßwand herausragende kristalline Strukturen zu erwarten, die als Cholesterinkristalle angesehen werden [29, 48]. Das eben genannte Tier Nr.97 zeigte auf der linken A. femoralis, die nach 16 Tagen Fütterung mit 5%igem Cholesterintrockenfutter entnommen worden war, mehrere solche Cholesterinkristalle (s. Abb. 19). Wie die vorliegende Abbildung demonstriert, scheinen die beobachtbaren Strukturen in diesem Fall von einem geschlossenen Endothel ohne Auflagerungen umgeben zu sein. Es ist noch auf die lagemäßig ungefähr bei 6 Uhr aus den Kristallen vortauchende Endothelzelle hinzuweisen, die durch die auffällig mit kleinen Granula besetzte Oberfläche in Erscheinung tritt, wie sie Endothelzellen, die im Abschliffen begriffen zu sein scheinen, öfter darbieten.

Ein Beispiel für die auf dieser Gefäßinnenfläche vielfach gefundenen Auflagerungen von Blutplättchen zeigt die Abbildung 20 in 1900-facher Vergrößerung. Bei diesem Gefäß handelt es sich ebenfalls um die linke A. femoralis von Tier Nr.97. Es ist anzunehmen, daß sich das Gefäß in einem Zustand vermehrter Kontraktion befindet, der an den deutlich hervortretenden Längsfalten zu erkennen ist. Das Endothel erweist sich bei Betrachtung als geschlossen, nachdem Risse oder Lücken nicht zu erkennen sind. Die im Bild bei drei Uhr gelegenen, abschliffenden Endothelzellen rufen zusammen mit den ca.



Abb.19: Linke A.femoralis (Tier Nr.97) in 4750-facher Vergrößerung: Cholesterinkristalle und abschilfernde Endothelzelle bei ca. 6 Uhr.



Abb.20: Linke A.femoralis (Tier Nr.97) in 1900-facher Vergrößerung: mehrere Thrombozytenadhäsionen

1 μ dicken, strangförmigen Gebilden, die z.B. wandbezogene Reste bereits abgeschilfterter Endothelzellen darstellen könnten, einen insgesamt im Vergleich zu üblichen Bildern veränderten Eindruck hervor. Dennoch sollte an der Geschlossenheit des Endothels nicht gezweifelt werden, wenn man als Ursache für die teils auftretende tiefe Furchung den oben erwähnten Grad der Kontraktion in Betracht zieht. Etwas links von der vertikalen Bildmittelachse treten Blutplättchenauflagerungen in Erscheinung, die fast in einer Reihe hintereinander in Blutströmungsrichtung am Endothel anhaften. Auch im gesamten übrigen Bild sind immer wieder etwas heller erscheinende, sich von der Oberfläche deutlich abhebende Strukturen von 1 μ bis 2 μ Größe dargestellt, die als Thrombozyten in der Ausbreitung anzusprechen sind.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß während ebenso wie einige Tage nach Beendigung der Cholesterinfütterung auf den untersuchten Arterienendothelien Thrombozytenadhäsionen in allerdings unterschiedlicher Ausprägung zu finden waren, obwohl die Tiere mit 1,5 g Acetylsalicylsäure täglich behandelt wurden. Ein regelrechter, über weite Bereiche des Endothels ausgedehnter Teppich von adhärenenten Thrombozyten, wie er bei den Cholesterinfütterungsversuchen ohne gleichzeitige Gabe von Acetylsalicylsäure regelmäßig aufgetreten war [29, 46, 47, 48] konnte jedoch in keinem Falle beobachtet werden.

4. Diskussion

Bei allen drei Tieren war über kurz oder lang ein Überschreiten der Plasmacholesterinwerte um mindestens den den Betrag der zweifachen Standardabweichung festzustellen.

Unter diesen Voraussetzungen kann man bei den untersuchten Tieren wohl mit gutem Grund von einer Hypercholesterinämie sprechen. Die Schweine neigen, wenn auch nicht alle in gleicher Ausprägung, zu einem verhältnismäßig prompten Anstieg des Cholesterinspiegels nach Beginn der Substratzufuhr, während der Cholesteringehalt des Blutes im Laufe des Fütterungsversuches trotz gleichbleibender Cholesteringabe meist allmählich wieder absinkt [85]. Eine Ausnahme bei den im vorliegenden Rahmen beobachteten Tieren bringt das Tier Nr.92, dessen Blutlipide durch einen langsamen, über fast einen Monat anhaltenden Anstieg gekennzeichnet sind. Trotz der auch bei früheren Versuchen mit Cholesterinfütterung an unserer Klinik vereinzelt nachgewiesenen Ausnahmen [85] kann konstatiert werden, daß das Miniaturschwein offenbar zu einer Art Kompensation erhöhter exogener Cholesterinzufuhr in der Lage ist. Es bestätigt sich die Feststellung, die bei der Untersuchung eines endogen angehobenen Cholesterinspiegels nach Thyreoid-ektomie erhoben wurde, daß der Cholesteringehalt des Blutes beim Miniaturschwein nicht zu einer andauernden Erhöhung neigt. In diesem Sinne nähert sich auch im vorliegenden Fall das Serumcholesterin im Laufe gleichbleibender Cholesterinzufuhr wieder den Ausgangswerten. Dabei ist aber festzuhalten, daß die Adhäsivitätserhöhung der Blutplättchen, wie sie sich anhand der mit Thrombozyten besetzten Endotheloberfläche rasterelektronenmikroskopisch nachweisen läßt, die Zeit der Fütterung von Cholesterin um etliche Tage überdauert, wie wohl auch der Gefäßbefund bei Tier Nr.97 elf Tage nach Beendigung der Cholesterinzufuhr zeigt. Insgesamt ist unter den Bedingungen der Cholesterinfütterung auf der Arterieninnenfläche gewöhnlich eine so große Zahl von in verschiedenen Stadien der Ausbreitung adhären-ten Thrombozyten nachzuweisen, daß von einem Thrombozyten-teppich oder -rasen die Rede ist, wie sowohl vom Kanin-

chen [29] als auch vom Miniaturschwein her [46, 47, 48, 49, 50] bekannt ist.

Daß es bei allen drei Tieren nur zu vereinzelten Thrombozytenausscheidungen kam, könnte dahingehend gedeutet werden, daß der Acetylsalicylsäure in der Tat eine antiadhäsive Eigenschaft zukommt, diese aber für den Reiz der Cholesterinfütterung bzw. Hypercholesterinämie zu schwach ist, um Adhäsionen von Blutplättchen völlig zu verhindern. Hierbei ist davon auszugehen, daß die Tatsache der nicht ausreichenden antiadhäsiven Wirkung der Acetylsalicylsäure wohl nicht Folge einer zu geringen Dosierung sein dürfte. Die klinischen Untersuchungen am Menschen beziehen sich fast alle auf eine Tagesdosis von 1,5 g Colfarit^(R) [40, 139]. Die beim Menschen verwendeten Mengen sind gut auf das Miniaturschwein übertragbar, nachdem dieses ein dem Menschen ähnliches Körpergewicht aufweist. Es existieren auch Befunde, nach denen eine thrombozytotrope Wirkung der Acetylsalicylsäure bereits bei einer Dosierung von 300 mg pro Tag gezeigt werden kann [127]. Allerdings scheinen niedrigere Dosen in der Tat zumindest problematisch zu sein, nachdem in der bekannten Studie des British Medical Research Council eine in thromboembolischer Hinsicht vorhandene prophylaktische Wirkung der Acetylsalicylsäure bei einer Dosierung von 0,6 g pro die nicht aufgezeigt werden konnte [75], während sich in der sogenannten "deutschen multizentrischen Colfaritstudie" unter 1,5 g Acetylsalicylsäure eine signifikant protektive Wirkung offenbarte, was die Häufigkeit postoperativer thromboembolischer Komplikationen anbelangt [11, 75]. Eine Dosiserhöhung über 1,5 g pro Tag hinaus scheint nicht zu einer nennenswerten Steigerung der thrombozytotropen Wirkungen der Acetylsalicylsäure zu führen [9]. Die festgestellte Wirkungsdauer einer Einzeldosis auf die Blutplättchen von 2 - 8 Tagen spricht gegen eine direkte Ab-

hängigkeit der Wirkung von der aktuellen Konzentration der Acetylsalicylsäure im Blut. Dieser Umstand wird bekräftigt durch die Tatsache, daß die hydrolytische Spaltung der Acetylsalicylsäure in Salicylsäure und Essigsäure mit einer biologischen Halbwertszeit von ungefähr 15 Minuten und die Eliminierung der Salicylsäure mit einer Halbwertszeit von einigen Stunden erfolgt [72].

Wie die Abbildungen 15 und 16 zeigen, verhindert die Acetylsalicylsäure nicht den Verschluß einer Endothelläsion durch die Thrombozyten im Verein mit dem plasmatischen Gerinnungssystem. Dies rührt daher, daß durch die Behandlung mit Acetylsalicylsäure die Thrombozytenaggregation nicht vollständig unterdrückt, sondern lediglich die Freisetzungsreaktion und die anschließende visköse Metamorphose bzw. die irreversible Thrombozytenaggregation inhibiert wird [40, 72, 80, 96]. Hierin unterscheidet sich die Acetylsalicylsäure unter anderem ja gerade von anderen Aggregationshemmern, z.B. bestimmten Prostaglandinen und den Dipyridamolderivaten, die auch die erste (reversible) Phase der Thrombozytenaggregation zu hemmen vermögen. Mit der Tatsache, daß die primäre Aggregation, wie auch der vorliegende Befund zeigt, nicht entscheidend beeinflußt wird, ist eine relativ hohe Sicherheit bei der therapeutischen ebenso wie bei der prophylaktischen Anwendung, wo dies besonders wichtig erscheint, verbunden [40, 72]. Die Thrombozyten behalten weitgehend die für die Blutstillung und Endothelreparation notwendige Funktion, die selbst nach eindeutigen Überdosierungen nicht verschwindet [72]. Auch die Fähigkeit des plasmatischen Gerinnungssystems zur Fibrinbildung bleibt erhalten [139]. Daß sich die Thrombozyten in ihrem Ausbreitungsverhalten morphologisch unter Colfarit^(R)-Medikation nicht nachweisbar verändert haben, zeigt die rasterelektronenmikroskopische Betrachtung von isolierten und auf eine unphysiologische Oberfläche

aufgebrachten Thrombozyten [88]. Aus diesen Tatsachen läßt sich ableiten, daß die "Thrombozytopathifizierung" [89] in einem Rahmen und Ausmaß abläuft, die morphologisch nicht direkt oder nur unter großen Vorbehalten faßbar sind.

Es handelt sich also um eine Funktionsänderung, die letztlich nur an ihren Auswirkungen auf das Wechselspiel der einzelnen Blutplättchen untereinander sowie zwischen Thrombozyt und Gefäßendothel morphologisch in Erscheinung tritt. In diesem Sinne brachten die im Rahmen der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuche sicher eine Enttäuschung, nachdem es nicht gelang, mit Acetylsalicylsäure eine völlige Kompensation der erhöhten Thrombozytenadhäsionsneigung unter Cholesterinfütterung zu erzielen. Bei dem genannten Modell kann eine verbindliche Aussage bezüglich der Wirkungskraft eines Pharmakons nur gegeben werden, wenn Thrombozytenadhäsionen unter definierter Cholesterinzufuhr wirklich völlig verhindert werden. Dies war jedoch bei den drei Tieren, über die berichtet wurde, nicht der Fall. Somit ließ sich nicht bestätigen was das erste Tier, das an unserer Klinik mit Cholesterin und Colfarit^(R) gefüttert wurde, vermuten ließ, daß nämlich Thrombozytenadhäsionen am intakten Endothel durch die orale Zufuhr von Acetylsalicylsäure verhindert werden können [49]. Bei allen drei darauffolgenden Tieren, die Gegenstand der vorliegenden Untersuchung sind, konnten vereinzelte Thrombozytenausscheidungen auf dem intakten Endothel nachgewiesen werden.

Damit wird die Problematik dieses In-vivo-Modells zur Untersuchung antiadhäsiver Eigenschaften von Pharmaka deutlich, die vor allem in der Auswertbarkeit und Aussagefähigkeit zu suchen ist. Der verwendete Reiz, also die Cholesterinfütterung mit nachfolgender Hypercholesterinämie, ist zu stark, um die qualitative, verbindliche Aussage zuzulassen, daß das vermehrte Anhaften von Thrombozyten am intakten Endothel unter Cholesterin-

belastung durch die Zufuhr von 1,5 g Acetylsalicylsäure pro Tag eindeutig gehemmt wird. Eine solche Aussage ist verbindlich nur dann möglich, wenn das Ergebnis, das vom Wesen her qualitativer Natur ist, in irgendeiner Weise quantifiziert werden könnte. Das Modell sollte also dergestalt angelegt werden, daß sich reproduzierbar ergibt, ob Thrombozytenadhäsionen in einem bestimmten Abschnitt der Gefäßoberfläche unter Acetylsalicylsäure in geringerer Anzahl zur Beobachtung gelangen oder nicht. Eine solche Beurteilung ist in der gegenwärtigen Ausgestaltung des Modells nicht möglich. Es besteht lediglich die mit erheblichen Mängeln behaftete Möglichkeit, zu konstatieren, daß der Untersucher bei Betrachtung der Präparate den Eindruck gewonnen hat, es seien mit Colfarit^(R) deutlich weniger auf dem intakten Endothel haftende Thrombozyten zu sehen gewesen als ohne Colfarit^(R). Eine derartige Auswertung von Befunden, die über die Wirksamkeit eines Pharmakons Auskunft geben sollen, kann nur unter großem Vorbehalt als experimentelle Grundlage für eine bestimmte Aussage genommen werden. Die Verfälschungsgefahr durch subjektive Fehlbeurteilung aufgrund eigener Erwartungen ist zu groß, als daß mit einer realisierbaren Individuenzahl verbindliche Feststellungen getroffen werden könnten. Solche Aussagen sind eben nur möglich, wenn die Blutplättchenabscheidungen wirklich völlig verhindert werden, d.h. also für stärker als Acetylsalicylsäure wirkende Pharmaka.

Ein Versuchsmodell wie das hier vorgestellte steht und fällt mit seiner Praktikabilität zum einen und seiner klinischen Relevanz zum anderen. Für Pharmaka der Wirkungsstärke von Acetylsalicylsäure können brauchbare Ergebnisse nur mit Modellen erzielt werden, die in definierter Art und Weise quantifizierbar sind. Dies kann einerseits auf dem Weg über die Reizintensität geschehen,

z.B. ein Stromstoß definierter Stärke oder ein Eisreiz festgelegter Temperatur. Andererseits sollte eine derartige Quantifizierung auch über eine standardisierte Vermessung der zu untersuchenden Endothelabschnitte möglich sein. Denkbar wäre zum Beispiel das Abzählen von Endothelauflagerungen, die als Thrombozyten in der Ausbreitung identifizierbar sind, in mehreren Quadranten, die bei allen beobachteten Gefäßpräparaten in gleicher Weise definiert und für die Auswertung zugrunde gelegt werden. Fehlerquelle einer solchen Betrachtungsweise sind die Strömungsbedingungen innerhalb des Gefäßes, die verantwortlich sind für bestimmte Prädispositionsstellen von Thrombozytenadhäsionen und bei einer solchen Verfahrensweise gänzlich unberücksichtigt bleiben, so daß bei einer schematischen Aufteilung des Präparates mit alleinigem Bezug zum Präparatrand besonders dichte Stellen nicht erfaßt werden bzw. umgekehrt. Auch verhindern die immer wieder auftretenden Endothelläsionen eine systematische Auswertung, weil das entsprechende Quadrat nicht verwertet werden kann. Ein weiterer Nachteil ist wohl die Tatsache, daß für statistisch vertretbare Aussagen teilweise Individuenzahlen nötig wären, die angesichts des Versuchstieres Schwein ein solches Modell nicht mehr praktikabel erscheinen lassen. Statistisch gesehen zu geringe Individuenzahlen können aber nicht mehr als einen kleinen Hinweis geben.

Zur rein orientierenden Beurteilung jedoch, ob überhaupt eine antiadhäsive Wirkung in vivo konstatiert werden kann, genügt die in der vorliegenden Arbeit praktizierte Verfahrensweise kombiniert mit einigen Versuchen, die sich definierter lokaler Reize bedienen. Zum Beispiel läßt sich aus den an unserer Klinik bis jetzt erhobenen Befunden ableiten, daß die Acetylsalicylsäure in vivo in der Tat antiadhäsive Eigenschaften besitzt. Endotheladhäsionen traten unter Acetylsalicylsäure doch insgesamt gesehen in deutlich geringerem Maße

auf, als dies von reinen Cholesterinfütterungsversuchen und lokalen Reizversuchen her bekannt ist.

Diese soeben getroffene Aussage gewinnt an Bedeutung, wenn man sie in klinischen Bezug zum Komplex der obliterierenden Arterienerkrankungen setzt. Nachdem die vorliegende Arbeit davon ausgeht, daß dem Anhaften von Blutplättchen am intakten Endothel eine initiale Rolle für die Pathogenese lumeneinengender Arteriopathien, allen voran der Arteriosklerose, zukommen könnte, ist ein Medikament, das in der Lage ist, derartige Adhäsionen zu verhindern, als Prophylaktikum zu bezeichnen. Bei einer geringen Zahl von Nebenwirkungen dürfte eine solche Substanz dann beim Vorliegen gewisser Risiken, also bereits im Stadium der "potentiellen Arteriopathie" indiziert sein. Das gleiche sollte mit etwas größerer Vorsicht in der Durchführung auch für Substanzen gelten, die zwar Thrombozytenadhäsionen unter dem Einfluß von Risikofaktoren nicht völlig verhindern, aber doch immerhin deutlich vermindern können. Mit aller gebotenen Vorsicht kann man die Acetylsalicylgruppe in diese Gruppe einreihen. Vielleicht bringt uns gerade diese schon bei mehreren Indikationen segensreiche Substanz einen kleinen Schritt weiter im Kampf um eine sinnvolle Prophylaxe und Therapie der Volkskrankheit Arteriosklerose.

C. Z U S A M M E N F A S S U N G

Für die Installierung eines Modells zur Überprüfung antiadhäsiver Medikamentenwirkung bei Hypercholesterinämie wurden orientierende Versuche angestellt. Dabei wurden drei Miniaturschweine einer saccarosereichen Ernährung unterzogen, um zu erkunden, ob auf diesem Wege eine Hypercholesterinämie zu erzeugen ist, was bei keinem der drei Tiere nachgewiesen werden konnte. Mögliche Gründe für diese Tatsache wurden, soweit vertretbar, diskutiert.

Bei drei weiteren Miniaturschweinen wurde die Schilddrüse entfernt, um die Eignung der danach zu erwartenden Hypercholesterinämie für das eben genannte Medikamentenmodell zu prüfen. Dieser Weg muß jedoch in der hier vorgestellten Form als nicht hinreichend ausgeprägt und reproduzierbar bezeichnet werden.

Schließlich sollte ebenfalls bei drei Tieren untersucht werden, ob die Bewährte Versuchsanordnung mit dem Nachweis von Thrombozytenadhäsionen unter Cholesterinfütterung geeignet ist, die hemmende Wirkung von Acetylsalicylsäure auf die Blutplättchenadhäsivität in vivo nachzuweisen. Obwohl die Tiere täglich 1,5 g Acetylsalicylsäure erhielten, zeigten sich unter der Cholesterinfütterung auf dem Endothel der untersuchten Gefäße vereinzelte Thrombozytenadhäsionen. Offensichtlich handelt es sich also bei der Blutlipiderhöhung im Gefolge von Cholesterinfütterung um einen so starken Adhäsionsreiz für die Thrombozyten, daß ihn Acetylsalicylsäure nicht aufzuheben vermag. Daraus ist abzuleiten, daß, zumindest solange das Modell nicht quantitativ ausgewertet werden kann, ein System mit einer zu geringen Empfindlichkeit für Substanzen von der Stärke der Acetylsalicylsäure vorzuliegen scheint, nachdem weder ein klassischer Thrombozytenrasen noch ein von Adhäsionen völlig freies Endothel nachzuweisen war. Für eine ein-

deutige Beurteilung fehlender bzw. vorhandener Wirksamkeit muß aber einer der eben genannten Befunde vorliegen. Dennoch läßt sich unter Vorbehalt feststellen, daß der Acetylsalicylsäure ein thrombozytenadhäsionshemmender Effekt in vivo durchaus zukommt.

D. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- [1] Antonis, A., J.Bersohn:
The Influence of Diet on Serum Triglycerides
Lancet 1961/I: 3

- [2] Ahrens, jr., E.H.:
Nutritional Factors and Serum Lipid Levels
Amer.J.Med. 23 (1957): 928

- [3] Bansi, H.W.:
Die klinischen Wirkungen der Schilddrüsenhormone
Verh.dtsch.Ges.Endokrinologie, 10.Symposion, S.52

- [4] Bansi, H.W.:
Krankheiten der Schilddrüse
In: Handbuch der Inneren Medizin Bd.VII/1
hrsg. von G.v.Bergmann, W.Frey, H.Schwiegk
Springer Verlag Berlin - Göttingen - Heidelberg 1955

- [5] Baumgartner, H.R., M.Cronquist, P.Wobmann, F.Streuli
und F.Duckert:
Die Messung der Thrombozytenadhäsivität
Schweiz.Med.Wschr. 97 (1967): 1674

- [6] Best, K.H., C.H.Duncan:
Thyroid hormones and cholesterol metabolism
Circulation 20 (1959): 18

- [7] Bizzozzero, J.:
Über einen neuen Formbestandteil des Blutes und
dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung
Virchows Arch. 90 (1882): 261

- [8] Bounamoux, Y., H. van Cauwenberge:
Action de la cortisone, de l'A.C.T.H. et du
salicylate de soude sur les thrombozytes et
la coagulation sanguine
Sang. 25 (1954): 889
- [9] Breddin, K., I.Scharrer, M.Schepping:
Die Hemmung der Plättchenaggregation mit
Acetylsalicylsäure
Münch.Med.Wschr. 40 (1971): 1284
- [10] Breddin, K., I.Scharrer and M.Schepping:
Acetylsalicylic Acid and Platelet Function
18th annual symposion on blood, Detroit 1970
- [11] Breddin, K.:
Zusammenfassung der Diskussionsbeiträge
Colfarit Symposion II 1973
- [12] Butterfield, W.J.H., e.a.:
Effect of Aspirin on Postoperative Venous Thrombosis
Report of the Steering Committee of a Trial Sponsored
by the Medical Research Council
Lancet 1972/II: 441
- [13] Carlson, L.A., and L.Orö:
The effect of Nicotinic Acid on the Plasma Free
Fatty Acids
Acta med. scand. 172 (1962): 641
- [14] Crawford, J.S., H.W.Hooi:
Binding of Salicylic Acid and Sulfanilamide
in Serum from Pregnant Patients, Cord Blood
and Subjects Taking Oral Contraceptives
Brit.J.Anaesth. 40 (1968): 723

- [15] Crile, G.:
Practical Aspects of Thyreoid Disease
W.B.Saunders Company, Philadelphia & London 1950
- [16] Dahme, E.:
Das Schwein, ein Versuchstier für die experimen-
telle Arterioskleroseforschung
Z.ges.exp.Med. 145 (1968): 305
- [17] Dahme, E.:
Die Bedeutung der nichtexperimentellen Arterio-
sklerose des Schweines für die vergleichende
Pathologie
Verh.dtsch.Ges.Path. 147 (1963): 382
- [18] Dahme, E.:
Atherosclerosis and Arteriosclerosis in
Domestic Animals
Ann.N.Y.Acad.Sci. 127 (1965): 657
- [19] Documenta GEIGY
Wissenschaftliche Tabellen, 7.Auflage,
Wehr (Baden) 1968
- [20] Doery, J.C.G., J.Hirsh, G.C. de Gruchy:
Aspirin: Its Effect on Platelet Glycolysis and
Release of Adenosine Diphosphate
Science 165 (1969): 65
- [21] Duguid, G.B.:
Pathogenesis of Atherosclerosis
Lancet 1949/II: 925
- [22] Eberth, J.C., C.Schimmelbusch:
Experimentelle Untersuchungen über Thrombose
Virchows Arch. 103 (1886): 39

- [23] Entenman, C., J.L.Chaikoff, F.L.Reichert:
Endocrinology 30 (1942): 802
- [24] Evans, G., M.A.Packham, E.E.Nishizawa, J.F.
Mustard, E.A.Murphy:
The Effect of Acetylsalicylic Acid on Platelet
Function
J.Exp.Med. 128 (1968): 877
- [25] Farnell, D.R., J.J.Bruns:
Dietary Starch: Effect on Cholesterol Levels
Metabol.Clin.Exptl. 11 (1962): 566
- [26] French, J.E., M.A.Jennings, J.C.Poole, D.S.
Robinson, and H.Florey:
Intimal Changes in the Arteries of Ageing Swine
Proc.Roy.Soc.B. 158 (1963): 24
- [27] French, J.E., M.A.Jennings, H.W.Florey:
Morphological Studies on Atherosclerosis
in Swine
Ann.N.Y.Acad.Sci. 127 (1965): 780
- [28] Frost, H., H.Hess und J.Richter:
Untersuchungen zur Pathogenese der arteriellen
Verschlußkrankheiten
Klin.Wschr. 46 (1968): 1099
- [29] Frost, H.:
Arterielle Verschlußkrankheiten
(Pathogenese und Klinik)
Kurzmonographie Sandoz Nr.10
hrsg. Sandoz AG, Nürnberg 1974

- [30] Gambino, S.R., H.Schreiber:
Automation in Analytical Chem. (1964): 437
- [31] Gast, L.F.:
Influence of Aspirin on Haemostatic Parameters
Ann.rheum.Diss. 23 (1964): 500
- [32] Goldberg, S.A.:
Chance in Organs of Thyroidectomized Sheep
and Goats
Quart.J.Exper.Physiol. 17 (1927): 15
- [33] Gould, R.G.:
The Relationship between Thyroid Hormones and
Cholesterol Biosynthesis and Turnover
In: Hormones and Atherosclerosis, Ed.: G.Pincus
Academic Press, New York 1959
- [34] Grande, F.:
Dietary Carbohydrates and Serum Cholesterol
Am.J.Clin.Nutr. 20 (1967): 176
- [35] Grande, F., J.T.Anderson, and A.Keys:
Effects of Carbohydrates of Leguminous Seeds,
Wheat and Potatoes on Serum Cholesterol Con-
centration in Man
J.Nutr. 86 (1965): 313
- [36] Grau, H.:
Die Organe mit innerer Sekretion
In: Ellenberger/Baum:
Handbuch der vergleichenden Anatomie der
Haustiere
Springer Verlag Berlin, Heidelberg,
New York 1974

- [37] Greten, H.:
Klinik und Klassifizierung primärer Hyper-
lipoproteinämien
In: Fettstoffwechselstörungen, hrsg.
v. G.Schettler
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1971
- [38] Guggenheim, K., J.Klan, and E.Peretz:
Effects of Dietary Carbohydrates and Aureomycin
on Serum and Liver Cholesterol in Rats
J.Nutr. 72 (1960): 93
- [39] Habermann, R.:
Persönliche Mitteilung, München 1976
- [40] Hangarter, W.:
Die Evolution eines Jahrhundert-Pharmakons
- Acetylsalicylsäure - für die Medizin
Med.Welt 25 (1974): 1968
- [41] Hanson, L.O.:
The Influence of Thrombocyte Aggregation
on Renal Circulation
Acta chir. Scand. Suppl. 345 (1965): 1
- [42] Hardinge, M.G., A.Chambers, H.Crooks, and
F.J.Stare:
Nutritional Studies of Vegetarians.
III. Dietary Level of Fiber
Amer.J.Clin.Nutr. 6 (1958): 523
- [43] Haring, F., R.Gruhn, D.Smidt, and B.Scheven:
Miniature Swine Development for Laboratory
Purposes
Swine in Biomedical Research (1966): 789

- [44] Hass, G.M., R.E.Trueheart, and A.Hemmens:
Experimental Athero-arteriosclerosis Due to Calci-
fic Medial Degeneration and Hypercholesterinemia
Amer.J.Path. 38 (1961): 289
- [45] Hatch, F.T., L.I.Abell, and F.E.Kendall:
Effects of Restriction of Dietary Fat and Chole-
sterol Upon Serum Lipids and Lipoproteins in Pa-
tients With Hypertension
Amer.J.Med. 19 (1955): 48
- [46] Hess, H., H.Frost:
Argumente für eine einheitliche Pathogenese poly-
ätiologischer arterieller Verschlußprozesse
Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforschung 40 (1970): 115
- [47] Hess, H.:
Neue Überlegungen zur Physiopathologie oblite-
rierender Angiopathien
Fortschr.Med. 88 (1970): 833 und 923
- [48] Hess, H., M.Marshall, M.Mallasch:
Eine einheitliche Theorie der Morphogenese aller
obliterierenden Angiopathien
VASA-Zschr.f.Gef.Krkh. 3 (1974): 373
- [49] Hess, H., E.Keil-Kuri, M.Mallasch, M.Marshall:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der
Verhinderung von Thrombozytenabscheidungen mit
Aggregationshemmern
Colfarit-Symposion II, hrsg. Bayer AG 1973
- [50] Hess, H., M.Marshall, M.Mallasch:
Zur Pathogenese obliterierender Arteriopathien
Med.Welt 25 (1974): 1180

- [51] Hess, H.:
Allgemeine Diagnostik der Gefäßkrankheiten
In: Gefäßerkrankungen, hrsg. v. F.Loogen und
K.Credner
Verlag Gerhard Witzstock, Baden-Baden, Brüssel
1974
- [52] Hess, H., M.Mallasch, M.Marshall:
Ein Modell zur Prüfung antiadhäsiver Wirkungen von
Arzneimitteln mit Hilfe des Rasterelektronenmikro-
skops
Therapiewoche 24 (1974): 1890
- [53] Heyden, S.:
Epidemiology
In: Atherosclerosis, herg. v. F.G.Schettler und
G.S.Boyd
Elsevier Publishing Company Amsterdam, London,
New York 1969
- [54] Heyden, S.:
Ernährung und Herzinfarkt
In: Fettstoffwechselstörungen, hrsg. v. G.Schettler
Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1971
- [55] Hillmann, G.:
Biosynthese und Stoffwechselwirkungen der Schild-
drüsenhormone
Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1961
- [57] Hirsch, S.:
Über den gegenwärtigen Stand der Frage der Arterio-
sklerose
Medizinische 1955 II: 1495

- [57] Hoeflmayr, J.:
Thyroninderivate in der Behandlung der Hyper-
cholesterinämie
In: Schilddrüsenhormone und Körperperipherie.
Regulation der Schilddrüsenfunktion.
Schriftleitung: E.Klein
Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg
1964
- [58] Hovig, T.:
The Role of Platelets in Thrombosis
XVIII.Symposion on Blood, Detroit 1970
- [59] Hudson, H., A.Rapoport:
Clin.Chem. 14 (1968): 222
- [60] Hurxthal, L.M.:
Blood Cholesterol in Thyroid Disease
Arch.Int.Med. 52 (1933): 86
- [61] Jennings, M.A., H.W.Florey, W.E.Stehbens,
and J.E.French:
Intimal Changes in the Arteries of a Pig
J.Path.Bact. 81 (1961): 49
- [62] Joist, J.H.:
Medikamentöse Hemmung der Blutplättchenfunktion
Med.Welt 21 (1970): 1247
- [63] Kalich, J., K.Krumbacher und B.Ruf:
Über die Erfahrungen mit Zucht und Haltung sowie
einige physiologische Daten des Hanford-Miniatur-
schweines
Z.ges.exp.Med. 145 (1968): 312

- [64] Kannel, W.J., W.P.Castelli, T.Gordon, P.M.McNamara:
Serum Cholesterol, Lipoproteins, and the Risk of
Coronary Heart Disease. The Framingham Study
Ann.int.Med.74 (1971): 1
- [65] Kannel, W.J., T.Gordon (Editors):
Coronary Heart Disease, Atherothrombotic Brain
Infarction, Intermittent Claudication - a Multi-
variate Analysis of Some Factors Related to Their
Incidence
In: The Framingham Study, Section 27 (1971)
U.S.Department of Health, Education and Welfare
Public Health Service
National Institutes of Health, Washington D.C.
- [66] Kaufmann, N.A., R.Poznanski, S.A.Blondheim, Y.Stein:
Changes in Serum Lipid Levels of Hyperlipidemic
Patients Following the Feeding of Starch, Sucrose
and Glucose
Amer.J.Clin.Nutr. 18 (1966): 261
- [67] Kiefhaber, P.:
Die Umwandlung eines experimentell erzeugten arteri-
ellen Abscheidungsthrombus
Inauguraldissertation, München 1965
- [68] Klein, E.:
Die Schilddrüse - Diagnostik und Therapie ihrer
Krankheiten
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1969
- [69] Klemens, U.H.:
Hyperlipidämie und Herzinfarkt
In: Störungen des Fettstoffwechsels,
Red.: P.Schwandt
Verlagsgesellschaft Otto Spatz, München 1973

- [70] Kobernick, S.D., and G.Niwayama:
Physical Acitivity in Experimental Cholesterol
Atherosclerosis of Rabbits
Amer.J.Path. 36 (1960): 393
- [71] Kremer, G.J., H.Niemczyk, W.Poeplau, R.F.Nicolescu:
Hyperlipoproteinämien bei peripheren arteriellen
Verschlußkrankheiten
In: Störungen des Fettstoffwechsels,
Red.: P.Schwandt
Verlagsgesellschaft Otto Spatz, München 1973
- [72] Linke, H., D.Loew:
Die Stellung der Antikoagulantien und Thrombozyten-
aggregationshemmer in der Behandlung der arteriellen
Verschlußkrankheit im Gliedmaßenbereich
Therapiewoche 23 (1973): 4681
- [73] Lobstein:
Traite d'anat.path. Paris 1833, zitiert nach [64]
- [74] Loew, D.:
Die Bedeutung der Thrombozyten für die Thrombogenese
und die pharmakologische Beeinflussung der Thrombo-
zytenfunktion
Münch.Med.Wschr. 116 (1974): 1409
- [75] Loew, D., N.Artik, K.Boehme:
Postoperative Thromboseprophylaxe mit Acetylsalicyl-
säure (Colfarit^R). Ergebnisse einer multizentri-
schen Doppelblindstudie
Colfarit-Symposium II hrsg. Bayer AG 1973

- [76] Lopez, A., R.E.Hodges, W.A.Krehl:
Some Interesting Relationship between Dietary
Carbohydrates and Serum Cholesterol
Amer.J.Clin.Nutr. 18 (1966): 149
- [77] Lydtin, H., M.Pieper, T.Kusus, K.Schnelle,
N.Zöllner:
Die Implantation von Verweilkathetern in die Vena
portae, Vena cava, den rechten Vorhof und in den
Magen des Miniaturschweines
Z.ges.exp.Med. 149 (1969): 279
- [78] Macdonald, J.:
Effects of Dietary Carbohydrates on Serum Lipids
Progr.biochem.Pharmacol. 8 (1973): 216
- [79] Macdonald, I., D.M.Braithwaite:
The Influence of Dietary Carbohydrates on the
Lipid Pattern in Serum and in Adipose Tissue
Clin.Sci. 27 (1964): 23
- [80] Macmillan, D.C.:
Effect of Salicylates on Human Platelets
Lancet (1968): 7562
- [81] Marcus, A.J., M.B.Zucker:
The Physiology of Blood Platelets. Recent Bio-
chemical Morphologic and Clinical Research
Grune and Stratton, New York 1965
- [82] Marsh, W.H., B.Fingerhut, H.Miller:
Clin.Chem. XI (1965): 624

- [83] Marshall, M., H.Lydtin, W.Krawietz, R.Hagen,
G.Schuckert, H.Hess, N.Zöllner:
Das Miniaturschwein als Versuchstier in der
experimentellen Medizin
Res. exp. Med. 157 (1972): 300
- [84] Marshall, M., H.Lydtin, W.Krawietz, G.Schuckert,
R.Lohmöller, N.Zöllner:
Erfahrungen mit einer neuen Anästhesie am Miniatur-
schwein
Zbl.Vet.Med. 19 (1972): 214
- [85] Marshall, M.:
Persönliche Mitteilungen, München 1976
- [86] Marshall, M.:
Atheroskleroseforschung heute
Ärztliche Praxis 28 (1976): 29
- [87] Marshall, M., H.Hess:
Der Thrombozyt - Schlüsselfigur in der Entstehung
obliterierender Angiopathien
Hauszeitschrift der F. Itting KG Nr.30 (1975): 1
- [88] Marshall, M., H.Hess:
Unveröffentlichte Ergebnisse
- [89] Marx, R.:
Einleitung
Colfarit-Symposium II hrsg. Bayer AG 1973
- [90] Mitchell, J.R., A.A.Sharp:
Platelet Clumping In Vitro
Brit.J.Haemat. 10 (1964): 78

- [91] Moreland, A.F., T.B.Clarkson, and H.B.Loffland:
Atherosclerosis in Miniature Swine
Arch.Path. 76 (1963): 203

- [92] Mustard, J.F., E.A.Murphy:
Effect of Different Dietary Fats on Blood Coagulation, Platelet Economy, and Blood Lipids
Brit.med.J. I (1962): 1651

- [93] Mustard, J.F.:
Platelets, Thrombosis and Vascular Disease
Canad.med.Ass.J. 85 (1961): 621

- [94] Nordøy, A., A.B.Chandler:
Formation of Platelet Fibrin Thrombi by Ellagic Acid and Adenosine Diphosphate in Rat
Lab.Invest. 16 (1967): 3

- [95] O'Brien, J.R.:
J.Clin.Path. 14 (1961): 140

- [96] O'Brien, J.R.:
Effect of Salicylates on Human Platelets
Lancet I (1968): 1431

- [97] Oester, Y.T., O.F.Davis, and B.Friedman:
Experimental Arteriopathy. Spontaneous, Epinephrine-, Thyroxine- and Cholesterol-induced Forms.
Amer.J.Path. 31 (1955): 717

- [98] O'Hara, D.D., D.Porte, and R.H.Williams:
The Effect of Diet and Thyroxine on Plasma Lipids in Myxedema
Metabolism 15 (1966): 123

- [99] Palmer, G.H., and D.G.Dixon:
Effect of Pectin Dose on Serum Cholesterol Levels
Amer.J.clin.Nutr. 18 (1966): 437
- [100] Pinckard, R.N., D.Hawkins, R.S.Farr:
InVitro Acetylation of Plasma Proteins, Enzymes
and DNA by Aspirin
Nature 219 (1968): 68
- [101] Portman, O.W., and F.J.Stare:
Dietary Regulation of Serum Cholesterol Levels
Phys.Rev. 39 (1959): 407
- [102] Ranni, I., J.B.Duguid:
The Pathogenesis of Cholesterol Arteriosclerosis
in Rabbit
J.Path.Bact. 66 (1953): 395
- [103] Rapoport, S.M.:
Medizinische Biochemie
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1973
- [104] Rechenberger, J.:
Erkrankungen des Stoffwechsels
In: Lehrbuch der Inneren Medizin, Bd.III
hrsg. v. A.Sundermann
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1971
- [105] Reumuth, H., V.Becker:
'Stereoscan', ein neues Elektronenmikroskop
Klin.Wschr. 46 (1968): 81
- [106] Róka, L.:
Physiologische Wechselwirkung zwischen Gefäßinhalt
und Gefäßwand
Dtsch.Med.J. 18 (1967): 349

- [107] Ross, R.:
Atherosklerose: Die Rolle von Endothelläsion,
Proliferation glatter Muskelzellen und Blut-
plättchenfaktoren
Triangel 15 (1976): 45
- [108] Rowsell, H.C., J.T.Mustard, H.G.Downie:
Experimental Atherosclerosis in Swine
Ann.N.Y.Acad.Sci. 127 (1965): 743
- [109] Scharrer, J., K.Bredden:
Zum Wirkungsmechanismus der Acetylsalicylsäure
als Aggregationshemmer
Colfarit-Symposium II hrsg. Bayer AG 1973
- [110] Schettler, G.:
Allgemeine ätiologische Möglichkeiten der Arterio-
sklerose
In: Arteriosklerose, hrsg. v. G.Schettler
Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1961
- [111] Schlierf, G.:
Renal und endokrin bedingte Hyperlipidämien
In: Die Hyperlipidämien in Klinik und Praxis,
hrsg. v. G.Hartmann und F.Wyss
- [112] Schlierf, G.:
Diätbehandlung von Hyperlipidämien
In: Fettstoffwechselstörungen, hrsg. v. G.Schettler
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971
- [113] Schlierf, G., W.Kahlke:
Fettstoffwechsel
In: Klinische Pathophysiologie,
hrsg. v. W.Siegenthaler
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1973

- [114] Schulz, H., J.Wedell:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Frage
der Fettphagozytose und des Fett-Transportes
durch Thrombozyten
Klin.Wschr. 40 (1962): 1114
- [115] Schnitker, M.T., E.C.Cutler, L.H. van Raalte:
Effect of Total Thyroidectomy in Man
Arch.int.Med. 57 (1936): 857
- [116] Schneider, W., C.Doenecke, P.G.Scheurlen, R.Gross:
Hemmung der Thrombozytenfunktion durch Acetyl-
salicylsäure
Med.Welt 22 (1971): 1262
- [117] Schwandt, P.:
Die sekundären Hyperlipoproteinämien
In: Störungen des Fettstoffwechsels,
Red. P.Schwandt
Verlagsgesellschaft Otto Spatz, München 1973
- [118] Scriba, H.:
Untersuchungsformular 'Endokrinologie' (1975)
Laboratorien für klin. Chemie und Endokrinologie
der II. Med. Klinik der Universität München,
Ziemssenstraße
- [119] Seaman, G.V.F., and D.E.Brooks:
Electrochemical Aspects of Platelet Adhesion and
Aggregation
In: Platelet Adhesion and Aggregation in Thrombo-
sis: Countermeasures.
Hrsg. von E.F.Mammen, G.F.Anderson, and
M.J.Barmhart

- [120] Seiferle, E.:
Schilddrüse
In: Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd.IV
hrsg. v. R.Nickel, A.Schummer, E.Seiferle
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1975
- [121] Siedeck, H.:
Totale Thyreoidektomie bei Herzkranken
Erg.inn.Med. 59 (1940): 1
- [122] Sinapius, D.:
Die Entstehung subendothelialer Lipophagenherde
bei Coronarsklerose
Virchows Arch.Abt.A.Path.Anat. 345 (1968): 169
- [123] Smith, E.B., R.S.Slater:
Relationship between Plasma Lipids and Arterial
Tissue Lipids
Nutr.Metabol. 15 (1973): 17
- [124] Sodhi, H.S.:
Cholesterol Metabolism in Man
In: Hypolipidemic Agents, hrsg. v. D.Kritchevski
(Handbook of Experimental Pharmacology Vol.41)
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
1975
- [125] Stampfl, B.:
Die Endothelialisierung von Gefäßwandauflagerungen
Verh.Deutsch.Ges.Path. 46 (1962): 47
- [126] Starke, H.:
Effect of the Rice Diet on the Serum Cholesterol
Fractions of One Hundred and Fifty Four Patients
with Hypertensive Vascular Disease
Amer.J.Med. 9 (1950): 494

- [127] Stuart, R.K.:
Platelet Function Studies in Human Beings Receiving 300 mg of Aspirin per Day
J.Lab.Clin.Med. 75 (1970): 463
- [128] Studer, A., K.Reber:
Der Tierversuch in der Arterioskleroseforschung
Erg.allg.Path.u.path.Anat. 43 (1963): 1
- [129] Sundermann, A., U.Nitschke:
Erkrankungen des Endokrinen Systems
In: Lehrbuch der Inneren Medizin, Bd. III
hrsg. v. A.Sundermann
VEB Verlag Gustav Fischer, Jena 1971
- [130] Tolckmitt, W.:
Beziehungen zwischen Ernährung und Gefäßkrankheiten vom Standpunkt des Tierexperiments
Medizinische (1959): 1288 und 1412
- [131] Trowell, H.:
Crude Fiber, Dietary Fiber and Atherosclerosis
Atherosclerosis 16 (1972): 138
- [132] Wallraff, J.:
Lehrbuch der Histologie des Menschen
Urban & Schwarzenberg Verlag, München - Berlin - Wien
1972
- [133] Wells, V.W., S.C.Anderson
The Increased Severity of Atherosclerosis in Rabbits on a Lactose-containing Diet
J.Nutr. 68 (1959): 541

- [134] Wolfram, G., N.Zöllner:
Allgemeine Aspekte zur Biochemie
In: Gefäßerkrankungen, hrst. von F.Loogen und
K.Credner
Verlag Gerhard Witzstock, Baden-Baden,
Brüssel 1974
- [135] Wolfram, G., P.Lenhardt, N.Zöllner:
Zum Einfluß der Saccharose in der Nahrung auf die
Lipide und Lipoproteine im Serum
Verh.Dtsch.Ges.inn.Med. 80 (1974): 1249
- [136] Yudkin, J.:
Diet and Coronary Thrombosis: Hypothesis and Fact
Lancet 1967 / II: 155
- [137] Youssef, A.H., P.Barkham:
Inhibition by Aspirin of Release of Antiheparin
Activity from Human Platelets
Brit.med.J. 3 (1969): 394
- [138] Zebe, H., T.Pfleiderer:
Beeinflussung der Thrombozytenadhäsivität durch
Aspirin während des akuten Stadiums eines Herz-
infarktes
Verh.Dtsch.Ges.inn.Med. 76 (1970): 649
- [139] Zekert, F.:
Thrombosen, Embolien und Aggregationshemmer in
der Chirurgie
F.K.Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York 1975
- [140] Zöllner, N., D.Eberhagen:
Untersuchungen über Stoffwechsel und klinische
Bedeutung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren
Med.Klin. 60 (1965): 1192

[141] Zöllner, N., und M.Tacconi:

Über die Konzentration einiger Lipide in Serum
und Organen des Miniaturschweins und ihre Abhängig-
keit vom Alter des Tieres

Z.ges.exp.Med. 145 (1968): 326

LEBENS LAUF

Am 27. September 1952 wurde ich als fünftes Kind des Rechtsanwaltes Lu-Hard Lutz und seiner Frau Ursula, geb. Schönfeld, in München geboren. Mein Vater war vor meiner Geburt am 25.7.1952 an den Folgen eines Herzinfarktes verstorben.

Von 1958 bis 1962 besuchte ich die Volksschule an der Stielerstraße in München. Von 1962 an war ich Schüler des Theresiengymnasiums in München, wo ich auch 1971 das Abitur ablegte. Im Oktober 1971 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. 1972 bestand ich das Vorphysikum, 1973 das Physikum, 1974 den ersten Teil, 1976 den zweiten Teil und schließlich 1977 den dritten Teil des Staatsexamens. Am 23. April 1977 heiratete ich die Kandidatin der Rechtswissenschaften Carmen Graf.

